Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski

DIE BEDEUTUNG VON HÄMOSTASIOLOGISCH WIRKSAMEN ANTEILEN IN IMMUNGLOBULINPRÄPARATIONEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

ARMIN BÜHLER
aus Geislingen/Steige

1987

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543904_0040

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski

DIE BEDEUTUNG VON HÄMOSTASIOLOGISCH WIRKSAMEN ANTEILEN IN IMMUNGLOBULINPRÄPARATIONEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von

ARMIN BÜHLER
aus Geislingen/Steige

1987

Dekan: Prof. Dr. J. Dichgans
1. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Heller
2. Berichterstatter: Prof. Dr. D. Heuser

Herrn Professor Dr. W. Heller möchte ich für das interessante Thema dieser Arbeit, für die selbstlose Unterstüztung und für die zahlreichen Anregungen danken.

Mein Dank gilt auch den Mitarbeitern von Herrn Professor Dr. W. Heller im Labor der Chirurgischen Universitätsklinik Tübingen, ohne die meine Arbeit schwerlich möglich gewesen wäre.

Abkürzungen

Ag	Antigen
Ak	Antikörper
AMS	Antikörpermangelsyndrom
AT III	Antithrombin III
C1-C9	Komplementkomponenten
C_H	konstante Domäne, H-Kette
Fab	fragment antigen binding
$F(ab')_2$	fragment antigen binding, bivalent
Fc	fragment crystalline
HMW	high molecular weight
Ig	Immunglobulin
ITP	idiopatische thrombozytopenische Purpura
PF/Dil	permeabilitätssteigernder Faktor
pNA	Paranitroanilin
sMPS	saures Mukopolysaccharid
V_L	variable Domäne, L-Kette

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung 1

II. Bedeutung von Immunglobulinen in der Klinik 5
1. Immunsystem 5
1.1. Zellen des Immunsystems 5
1.2. Struktur der Antikörper 6
1.3. Funktion der Immunglobuline 8
1.4. Komplementsystem 9
2. Immunglobulinpräparate für die med. Anwendung 12
2.1. Qualitätsanforderungen an Immunglobulinpräparate 12
2.2. Immunglobuline zur intravenösen Anwendung 13
3. Klinische Anwendung von Immunglobulinpräparationen 16
3.1. Antikörpermangelsyndrom 17
3.2. Autoimmunerkrankungen 18
3.3. Plasmapherese 18
3.4. Chirurgie 18
3.5. Chemotherapie 19
3.6. Bakterielle und virale Infektionen 19
4. Nebenwirkungen 20
4.1. Anaphylaktoide Reaktion 20
4.2. Phlogistische Reaktion 21

III. Untersuchte Parameter 23
1. Kallikrein-Kinin-System 23
2. C1-Inhibitor 25
3. Fibrinogen 27
4. Antithrombin III 28
5. Plasminogen 30
6. Präalbumin 32
7. Albumin 32

IV. Material und Methoden 35
1. Materialien 35
2. Methoden 37
2.1. Kallikrein-Like-Activity 41
2.2. Präkallikrein 43
2.3. Kallikrein-Inhibitor-Activity 45
2.4. Fibrinogen 47
2.5. Antithrombin III 48
2.6. Plasminogen 50
2.7. Präalbumin 52
2.8. Albumin 52
2.9. IgG 52

V. Ergebnisse 53
1. Kallikrein-Like-Activity 54
2. Präkallikrein 57
3. Kallikrein-Inhibitor-Activity 60
4. Fibrinogen 64
5. Antithrombin III 67
6. Plasminogen 72
7. Präalbumin 74
8. Albumin 77
9. IgG 78

VI. Diskussion 81
1. Kallikrein-Like-Activity 81
2. Präkallikrein 83
3. Kallikrein-Inhibitor-Activity 84
4. Fibrinogen 84
5. Antithrombin III 85
6. Plasminogen 86
7. Präalbumin 86
8. Albumin 87
9. IgG 88

VII. Zusammenfassung 91

VIII. Literaturverzeichnis 93

IX. Tabellenanhang

I. Einleitung

Die Immunologie befaßt sich mit molekularbiologischen Mechanismen von individueller Spezifität. Mit Hilfe dieser Mechanismen sind Mensch und Tier in der Lage, Fremdstoffe, Toxine, Mikroorganismen, fremde Gewebestrukturen und entartetes Eigengewebe zu neutralisieren oder zu eliminieren. Das Erkennen von Stoffen als nicht körpereigen und die Prägung der an der Abwehr beteiligten Systeme zur Ausbildung von humoralen und zellulären Abwehrmechanismen sind die wichtigsten immunologischen Reaktionen. Durch sie werden Struktur und Funktion des Organismus erhalten, wenn von außen eindringende Fremdstoffe, d.h. Antigene oder Immunogene, die äußeren Barrieren des Individuums durchbrochen haben (15, 105, 152, 165).

Empirische Beobachtungen zeigten, daß jene Menschen, die Seuchen, wie Pest und Pocken überlebten, von einem neuerlichen Befall mit der gleichen Krankheit geschützt waren. Die Erfahrung zeigte auch, daß Bauern, die z.B. mit Kuhpocken in Kontakt kamen, stets vor Pockenbefall geschützt waren. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden die ersten Vakzinationen durchgeführt. 1874 wurde im Deutschen Reich die allgemeine Impfpflicht gegen Pocken eingeführt (152, 168, 179).

Zur Unterstützung des Körpers im Kampf gegen Krankheitserreger wurden bereits vor über neunzig Jahren die ersten antikörperhaltigen Präparate zur Therapie von Diphtherie und Tetanus von Emil v. Behring und Kitasato (9) entwikkelt. Diese bahnbrechende Arbeit wurde mit dem ersten Nobelpreis für Medizin im Jahre 1901 gewürdigt. Fünfzig Jahre lang wurden heterologe, also von Tieren stammende, spezifische Immunseren weiterentwickelt. Sie wurden sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch angewendet (165).

Vor rund vierzig Jahren begann die Entwicklung von homologen unspezifischen Immunglobulinpräparaten, die zunächst nur intramuskulär applizierbar waren. Vor etwa zwanzig Jahren gelang es schließlich, die Antikörper derart zu modifizieren, daß sie bei intravenöser Anwendung selten unerwünschte Nebenwirkungen zeigten (28, 166, 179).

Immunglobuline werden durch verschiedene Aufbereitungsverfahren aus dem Serum isoliert, wobei meist Neutralsalze oder Alkohol zur Ausfällung verwendet werden (28, 166). Durch chemische, enzymatische oder thermische Aufbereitungsverfahren, sowie durch Adsorption, Fraktionierung und Säurebehandlung wird die Verträglichkeit der Präparate bei intravenöser Gabe erhöht (166, 178). Gemeinsames Ziel aller Methoden ist die Produktion von aggregatarmen bzw. -freien Immunglobulinen, die nicht irreversibel geschädigt wurden und keine Immunreaktion ohne Antigenkontakt hervorrufen können (166).

Die Prüfung auf Reinheit und Identität der Immunglobulinpräparate ist im Europäischen Arzneibuch (47) beschrieben. Sie beinhaltet die Bestimmung von pH-Wert, Gesamteiweiß, Stabilität, Sterilität, Pyrogenen und anormaler Toxizität. Es dürfen nur Proteine menschlichen Ursprungs verwendet werden, die eine bestimmte elektrophoretische Beweglichkeit und einen bestimmten Sedimentationskoeffizienten aufweisen (47).

Heute werden Immunglobulinpräparationen bei primärem (30, 93, 116) und sekundärem (72, 99, 143) Antikörpermangelsyndrom, bei Autoimmunerkrankungen (84, 93, 144), nach Plasmapherese (37, 49), bei chirurgischen Risikopatienten (41, 42, 43), nach Chemotherapie (71, 99, 150) und bei bakteriellen (33, 158, 173) und viralen (82, 85, 145) Infektionen angewendet.

Bei intravenöser Gabe von 7S-Immunglobulinen können Unverträglichkeitsreaktionen wie Kopfschmerzen, flushartige Rötungen des Gesichts, Oppressionsgefühl auf der Brust, Dyspnoe, Angstgefühl, Fieber, Schüttelfrost, Übelkeit und Kreislaufkollaps mit Bewußtlosigkeit auftreten (50). Die Nebenwirkungen werden je nach klinischen Zeichen in anaphylaktoide und phlogistische Reaktionsformen eingeteilt (63).

Der überwiegende Anteil der eben beschriebenen Nebenwirkungen hat seine Erklärung in der Nichtbeachtung bzw. falschen Anwendung der von den Herstellern der Immunglobulinpräparationen vorgeschriebenen Maßregeln wie Infusionsgeschwindigkeit, Beschaffenheit und Temperatur der Infusionslösung (50, 170).

Ebenfalls zur Diskussion stehen vorausgegangene Sensibilisierungen, unspezifische Komplementaktivierung, Überempfindlichkeit gegen Stabilisatoren des Präparates und pharmakodynamische Wirkungen des Präkallikreinaktivators (50, 63).

Dies zeigt, daß sich die Nebenwirkungen auch in endogene, d.h. vom Patienten abhängige Ursachen und in exogene, d.h. vom Präparat abhängige Ursachen einteilen lassen (50, 63). Die präparatabhängigen Ursachen können unter Umständen darin begründet sein, daß trotz der aufwendigen Herstellungsverfahren auch andere Plasmabestandteile als das Immunglobulin G, wie Proteine des Kallikrein-Kininsystems, des Gerinnungssystems und deren Inhibitoren in den Immunglobulinpräparationen enthalten sind (77).

In jüngster Zeit sind daher von einigen Arbeitsgruppen Untersuchungen über die tatsächlichen Bestandteile von Gammaglobulinpräparationen durchgeführt worden (50, 63, 146).

Auch die vorliegende Arbeit hat die Charakterisierung von Immunglobulinpräparationen in Bezug auf Unverträglichkeitsreaktionen zum Gegenstand.

Das Kallikrein-Kinin-System nimmt wegen seinen Beziehungen zum Gerinnungs- und Fibrinolysesystem, zur Immunabwehr und wegen seinen blutdrucksenkenden Eigenschaften eine zentrale Stellung in der Untersuchung ein (77, 95).

Die Beeinflussung des permeabilitätssteigernden Faktors und die Interaktion mit dem Kallikrein-Kinin-System durch den C1-Inhibitor führte zu dessen Einbeziehung in die Untersuchung (65, 92, 106).

Weil die Präparationen häufig bei Patieten mit erhöhter Gerinnungs- und Fibrinolyseaktivität angewendet werden, wie z.B. bei chirurgischen Patienten, sollten Fibrinogen, Antithrombin III und Plasminogen in der vorliegenden Arbeit Berücksichtigung finden.

Darüber hinaus wurde der Albumingehalt gemessen, um auf eine evtl. intravasale Volumenüberlastung rückschließen zu können (35). Außerdem wurde die tatsächliche IgG-Konzentration der Präparationen bestimmt.

II. Bedeutung von Immunglobulinen in der Klinik

1. Immunsystem

Die Aufgaben des Immunsystems sind die Erkennung körperfremder Substanzen und deren Elimination. Die Erkennung erfolgt durch Rezeptoren, die auf der Plasmamembran schon vorhandener Zellen lokalisiert sind. Die Eliminierung hängt von zellulären und humoralen Elementen ab, welche sich auf den Reiz der erkennenden Zellen hin neu oder vermehrt bilden (15). Fremdstoffe, die eine solche Immunantwort auslösen, werden als Antigene bezeichnet.

Das Immunsystem verfügt über spezifische und unspezifische Möglichkeiten der Antigenabwehr. Zur unspezifischen Möglichkeit der Sofortabwehr gehört das Komplementsystem. Zur Sofortabwehr gehören vor allem die Granulozyten, Monozyten und die Makrophagen, wovon letztere einige Komplementfaktoren synthetisieren können (132, 165). Sie besitzen außerdem spezifische Antigenerkennungsmöglichkeiten und üben so eine Übermittlerfunktion zum System der Lymphozyten aus.

1.1. Zellen des Immunsystems

Neben den oben genannten Zellen der Sofortabwehr gehören auch die Lymphozyten zum Immunsystem. Sie sind die Träger der spezifischen Immunabwehr und ebenso des immunologischen Gedächtnisses. Die Lymphozyten gehen direkt aus Knochenmarkstammzellen hervor. Anschließend entstehen zwei Arten: die T-Lymphozyten und die B-Lymphozyten (105, 165).

Die T-Lymphozyten werden im Thymus geprägt und erreichen als reife Zellen die peripheren lymphatischen Organe. Sie sind vorwiegend für zelluläre Immunreaktionen verantwort-

lich, wie das Abtöten anderer Zellen (spezifische Zytotoxizität) und die Sekretion von Lymphokinen, die zelluläre Effektorreaktionen induzieren (132). Außerdem besitzen sie eine wichtige Funktion bei der Regelung der Immunantwort; die T-Helferzelle übermittelt dem B-Lymphozyten die Botschaft, welche Antikörper akut gebildet werden müssen, worauf dann die entsprechenden Zellklone von B-Zellen heranwachsen (klonale Expansion) (165). Der Antagonist, der Suppressorzelle genannt wird, ist in der Lage, ein Überschießen der Immunreaktion zu verhindern.

Die B-Lymphozyten werden im beim Menschen unbekannten Bursaäquivalent geprägt (117). Sie wandeln sich nach Antigenkontakt in antikörperproduzierende Plasmazellen um. Dies wird humorale Immunreaktion genannt. Außerdem erfüllen sie auch Aufgaben innerhalb der zellulären Immunität, indem sie Lymphokine sezernieren (132).

1.2. Struktur der Antikörper

Da das Immunglobulin G mit etwa 75 - 80 % den Hauptanteil der Immunglobuline des Plasmas ausmacht und auch den Hauptbestandteil der intravenös applizierbarer Immunglobulinpräparationen darstellt, beschränke ich mich im folgenden hauptsächlich auf die Beschreibung dieses Proteins. Das Bauprinzip der Immunglobuline wird von den beiden Hauptfunktionen bestimmt: Der variable Teil dient der Antigenerkennung und -bindung (Primärreaktion) und ist von Molekül zu Molekül verschieden. Der konstante Teil nimmt unspezifische Effektorfunktionen wahr (Sekundärreaktion), und garantiert die Einheitlichkeit einer Immunglobulinklasse in Struktur und Funktion (166, 179).

In der Grundstruktur setzen sich die Antikörper aus je zwei leichten (L-Kette = light chain) und zwei schweren (H-Kette = heavy chain) Polypeptidketten zusammen, die

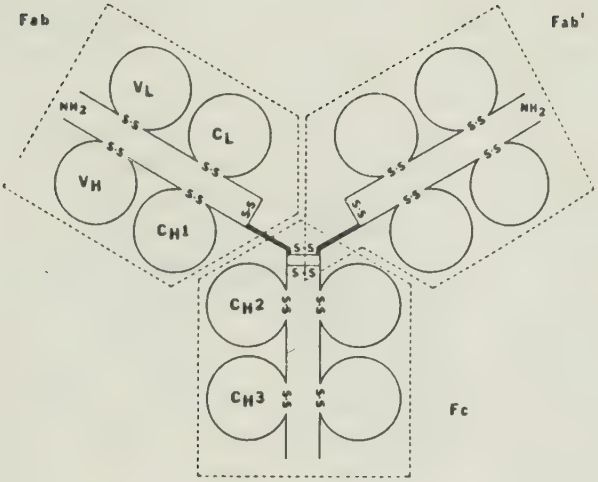

Abb. 1: Modell eines IgG-Moleküls nach Amzel (3)

durch chemisch und elektrostatische Bindungskräfte in einer definierten Form zusammengehalten werden (115). Der vollständige Antikörper stellt eine Y-Form dar, bestehend aus den beiden Fab-Armen (fragment antigen binding) und einem Fc-Teil (fragment crystalline) (166, 179). Die Gelenkregion erlaubt eine große Beweglichkeit der Fab-Arme bei der Bildung des Antigen-Antikörperkomplexes.

Aufgrund ihrer exponierten Lage werden sie leicht von Proteasen angegriffen. Plasmin und Papain spalten den Antikörper in einen Fc- und zwei Fab-Anteile. Pepsin spaltet in das bivalent bindungsfähige $F(ab)_2$ und das Dimere der C_H3 Domäne, das sogenannte pFc (165). Diese Eigenschaft ist für die Herstellung intravenös applizierbarer Immunglobuline von Bedeutung (siehe Tab. 1).

Das eben beschriebene IgG wird in verschiedene Subklassen

unterteilt, die sich hauptsächlich in Anzahl und Lage der Disulfidbrücken unterscheiden. Daneben gibt es noch vier andere wichtige Immunglobulinklassen, deren H-Ketten unterschiedlich aufgebaut sind (179).

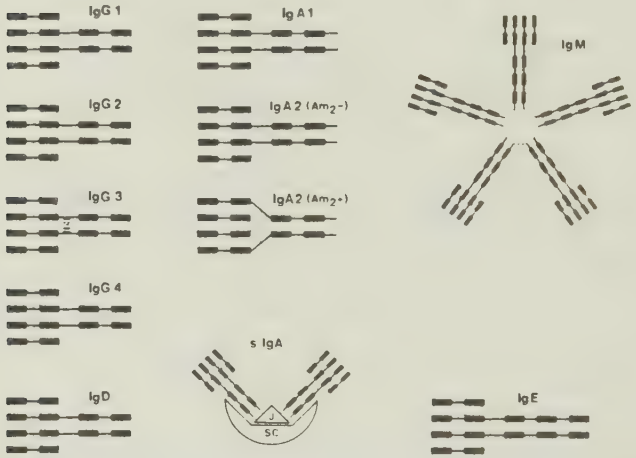

Abb. 2 IgG-Klassen und Subklassen: Modellstrukturen der Klassen der menschlichen Immunglobuline und der Subklassen von IgG und IgA. Die fett gezeichneten Balken symbolisieren das Grundelement der Immunglobulinstrukturen, die Domäne

▬	Domäne
-----	Disulfidbrücke
J	J-Kette
SC	sekretorische Komponente

nach Vorlaender und Seiler (179)

1.3. Funktion der Immunglobuline

Die primäre Funktion der Antikörper ist die Fähigkeit Antigene zu binden. Die erste Domäne der H- und L-Kette mit den in drei bzw. vier Teilbereichen variablen Aminosäuresequenzen (V_H und V_L) beherbergt dieses Funktionsmerkmal (166) (siehe Abb. 1). Die anschließenden ersten konstanten Domänen C_H1 und C_L besitzen eine sogenannte "Spacer" Funktion, d.h. die Antigenbindungsstelle wird räumlich

von Strukturen getrennt, die Effektormechanismen aktivieren, um eine eventuelle gegenseitige sterische Behinderung zu vermeiden (115).

Die konstanten Domänen der schweren Ketten sind für die Effektorfunktionen der Immunglobuline verantwortlich. Jedoch müssen die Sekundärreaktionen des Fc-Stammes durch die hochspezifische Bindung des Antikörpers an sein Antigen induziert werden (165). Folgende Fc-vermittelte Reaktionen sind zu nennen (166, 179):

- Komplementaktivierung über den klassischen Weg
- IgG-Synthese-Regulation durch positive und negative Rückkopplung
- Opsonierung durch Bindung an Fc-Rezeptoren
- Antikörpervermittelte Zytotoxizität über T-Lymphozyten
- Thrombozytenaktivierung
- Steuerung der biologischen Halbwertszeit
- Bindung an andere Membranen, z.B. an die Basalmembran der Lunge
- Plazentapassage

Die Reaktion eines einzelnen IgG-Moleküls mit Komplementproteinen oder Fc-Rezeptoren ist so schwach, daß eine Aktivierung ausbleibt. Durch die Bivalenz der Antigenbindungsstelle wirkt der Antikörper vernetzend, sodaß Immunkomplexe mit eng beieinanderliegenden Fc-Teilen entstehen. Eine so ermöglichte Mehrfachbindung an C1 oder zelluläre Fc-Rezeptoren bewirkt deren Aktivierung (81).

1.4. Das Komplementsystem

Unter Komplement werden verschiedene Plasmaproteine zusammengefaßt, die sowohl spezifisch durch eine Antigen-Antikörper-Reaktion (klassischer Weg), als auch durch antikör-

perunabhängige Substanzen (alternativer Weg) aktiviert werden können (39, 123, 177). Ebenso werden die das Komplementsystem regulierenden Kontrollproteine dem Komplementsystem hinzugerechnet (156). Die Synthese der Komplementfaktoren erfolgt in Makrophagen, Monozyten, Fibroblasten, Epithelzellen und in der Leber (156).

Beim klassischen Weg der Komplementaktivierung sind elf Proteine beteiligt, die mit C1 - C9 bezeichnet werden, wobei C1 aus drei verschiedenen Proteinen besteht. Die Aktivierung erfolgt durch die Fc-Teile von IgG- und IgM-Antigen-Komplexen. Hierbei werden drei Phasen unterschieden (102, 109, 127): Erkennung (C1q, C1r, C1s), Aktivierung (C4, C2, C3) und zytotoxischer Angriff (C5 - C9).

Der alternative Weg umgeht die ersten Komplementkomponenten. Das System wird auf Stufe 3 durch Pflanzen-, Pilz- und Bakterienpolysaccaride und verschiedene Lipopolysaccaride aktiviert, wobei die Komponenten Faktor D, Faktor B und Properdin eine wichtige Rolle spielen. Der alternative Reaktionsweg wird deshalb auch Properdinsystem genannt (36, 177). Die Komponenten C3 - C9 sind beiden Reaktionswegen gemeinsam.

Die kaskadenartige Aktivierung des Komplementsystems hat die Zerstörung körperfremder oder antikörperbedeckter eigener Zellen zum Ziel, sei es durch chemotaktische Faktoren, Opsonierung oder Lyse (36).

Die Polypeptide C3a und C5a stellen wichtige Entzündungsmediatoren dar. Aus Mastzellen vermögen sie Histamin freizusetzen. Dies führt zur Kontraktion der glatten Muskulatur und zur Steigerung der Vasopermeabilität (156). Erwähnt sei noch der Einfluß des C-Systems auf die Antikörpersynthese über das aktivierte C3 (123, 177).

Eine Besonderheit des C3b-mediierten Weges liegt in der Aktivierung von Makrophagen zur Synthese des Proteins C3 und entsprechenden Aktivierungsenzymen. Dieser positive Feedback-Mechanismus wird von spezifischen Inhibitoren kontrolliert. Der Mechanismus kann ohne Hilfe von Antikörpern und Fc-Strukturen wirksam werden. So genügt der Komplex des bivalent bindungsfähigen $F(ab)_2$-Moleküls mit Antigenen zur Aktivierung des alternativen Komplementweges über C3 unter Umgehung des klassischen Weges (156, 166).

Das Komplementsystem ist eng mit anderen Plasmaproteinsystemen verbunden, wie dem Blutgerinnungssystem, dem fibrinolytischen System und dem Kininsystem (123). Die genauen Zusammenhänge sind in Abb. 3 dargestellt.

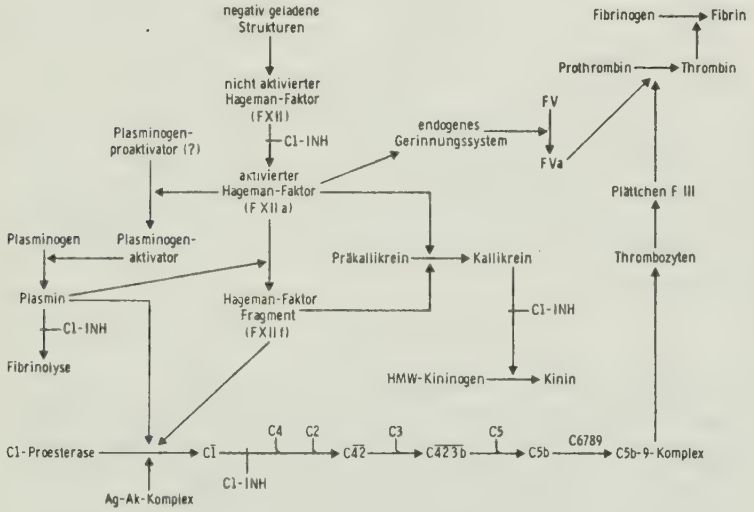

Abb. 3: Schematische Darstellung einiger wichtiger Verknüpfungspunkte der Plasmaproteinsysteme nach Opferkuch (123)

2. Immunglobulinpräparate für die medizinische Anwendung

2.1. Qualitätsanforderungen

Ausgangsmaterial für die Herstellung polyvalenter, homologer Immunglobulinpräparate ist ein Pool aus Plasma von mindestens 1000 gesunden Blutspendern, um zu gewährleisten, daß jede Charge einen repräsentativen Querschnitt durch das Antikörperspektrum der Bevölkerung enthält. Hyperimmunglobuline werden aus dem Plasma spezifisch immunisierter Spender gewonnen (31, 165).

Die Herstellungsmethode muß gewährleisten, daß das von ihr gelieferte Produkt keine Infektionen überträgt und die Antikörper um den Faktor zehn anreichert (155). Den Bestimmungen des Europäischen Arzneibuches (47) gemäß sind mindestens ein antibakterieller und ein antiviraler Antikörper zu überprüfen. Normalerweise wird auf Antikörper gegen Diphtherietoxin, Masern- und Polyomyelitisviren untersucht. Es dürfen nur Proteine menschlichen Ursprungs verwendet werden. Der IgG-Gehalt muß mindestens 90% betragen, 80% müssen monomeres IgG, höchstens 15% di- und trimeres IgG sein, maximal 5% dürfen Spaltprodukte und Albumin sein (31, 155).

Enzyme, die Immunglobulin abbauen können, wie z.B. Plasmin, dürfen nicht enthalten sein. Geprüft wird, ob das Präparat nach einmonatiger Lagerung bei 37°C frei von Abbauprodukten ist. Der pH-Wert muß zwischen 6,4 und 7,2 liegen. Der geforderte Eiweißgehalt liegt bei 10 - 17 g/dl für die intramuskuläre Anwendung bzw. 1 - 5 g/dl für die intravenöse. Ferner muß das Produkt pyrogenfrei, steril und frei von anormaler Toxizität sein (47, 146, 155).

2.2. Immunglobuline zur intravenösen Anwendung

Zur Isolierung von Immunglobulienen aus dem Plasma werden meist Alkohole oder Neutralsalze zur Ausfällung verwendet, zum Teil auch Hydroxyläthylstärke und Polyäthylenglykol. Auch Chromatographieverfahren und Ionenaustauscher können verwendet werden (28, 166, 179).

Im Gegensatz zu den für die intramuskuläre Anwendung auf 16% ankonzentrierten Präparate liegt für die intravenöse Applikation meist eine 5 - 6 %ige Lösung vor (166). Die intravenöse Anwendung zeigt folgende Vorteile (8, 158):

- schnellere Wirksamkeit
- bessere Ausnutzung des applizierten Immunglobulins durch Umgehung lokaler Resorptionsverluste
- exaktere Dosierungsmöglichkeit
- Vermeidung von schmerzhaften lokalen Reizerscheinungen, die eine intramuskuläre Injektion auch kleiner Mengen hervorruft.

Um eine gute Verträglichkeit der Präparate bei intravenöser Anwendung zu erzielen, sind spezielle Aufbereitungsverfahren notwendig (166). Siehe dazu nachfolgende Tabelle. Aufgrund der durch die Behandlung veränderten Molekülstruktur und den davon abhängigen veränderten Eigenschaften werden die modifizierten Präparate mit "Immunglobulin-Präparationen vom Menschen" bezeichnet (155).

Gemeinsames Ziel aller Methoden ist die Produktion von aggregatarmen bzw. -freien Immunglobulinen, die nicht irreversibel geschädigt wurden und deshalb keine Fc-vermittelte Aktivität ohne Antigenkontakt hervorrufen können. Die antigenunabhängige Komplementaktivierung wird als indirektes Qualitätskriterium herangezogen (166). Durch das Fehlen eines geeigneten pharmakologischen Tiermodelles ist man auf klinische Verträglichkeitsstudien und Langzeitbeobachtun-

gen angewiesen. Angaben darüber sind in der zugänglichen Literatur äußerst selten zu finden (63).

Herstellungsmethode	z.B. mit
enzymatisch	- Pepsin - pH 4 und Pepsin - Plasmin
chemisch	- ß-Propiolakton - Sulfit, Tetrathionat - Dithiothreitol/Jodacetamid - Dithioerythritol/Carbodiimid/Glycin
Säure	- pH 4 (Säure)
Temperatur	- 56°C
Adsorption	- Kohle - Kieselsäure - Bentonit - Ca- oder Al-Phosphat
Fraktionierung	- Polyäthylenglykol in Kombination mit: Hydroxyäthylenstärke Blockmischpolymerisation Dextranen verschiedenen Adsorptionsmitteln Ammonsulfat - 2-Äthoxy-6,9-diamino-acridin-DL-lactat - Äthanol - Ionenaustauscher

Tab. 1: Unterschiedliche Methoden zur Herstellung von Immunglobulinen zur intravenösen Anwendung (178)

Es sind zwei Gruppen von Antikörperpräparationen zu unterscheiden: durch enzymatische IgG-Spaltung erhaltene Fab- oder $F(ab)_2$-Moleküle und ungespaltenes, intaktes IgG, das durch andere Behandlungsverfahren eine Verbesserung der Verträglichkeit erfahren hat (58, 164).

Nachfolgende Tabelle zeigt die doch recht unterschiedlichen Eigenschaften von IgG und seinen Spaltprodukten.

	IgG	$F(ab')_2$	Fab
Natürliches Vorkommen	+	+	+
Halbwertszeit (Blut)	18-21Tage	2 Tage	1 Tag
Gewebegängigkeit	+	++	++
Zunahme der katabolen Rate	++	-	-
Antigenspezif.Immunsuppression	++	-	-
Komplementaktivierung			
- klassisch	++	-	-
- alternativ	++	++	+/-
Toxine			
- Neutralisation	++	++	++
- Elimination	++	++	++
- Elimination von Haptenen	++	+++	+++
Infektionen			
- antibakteriell	++	++	+/-
- antiviral	++	++	+/-
Phagozytose			
Makrophagen			
- via Fc-Rezeptoren	++	-	-
- via C3b-Rezeptoren	++	++	-
Granulozyten			
- via Fc-Rezeptoren	++	-	-
- via C3b-Rezeptoren	++	++	-
Exozytose			
Makrophagen			
- via Fc-Rezeptoren	++	-	-
- via C3b-Rezeptoren	++	++	-
Granulozyten			
- via Fc-Rezeptoren	++	-	-
- via C3b-Rezeptoren	++	+	-
Exozytose und Aggregation			
Thrombozyten	++	-	-

Tab. 2: Eigenschaften von IgG und seinen Spaltprodukten (164)

$F(ab')_2$-Immunkomplexe zeigen auf Grund der geringen Interaktion mit Zellen bzw. den humoralen Systemen, die an Entzündungsreaktionen maßgeblich beteiligt sind, eine bessere Verträglichkeit als ungespaltenes IgG. Bedingt durch den fehlenden Fc-Teil unterdrücken $F(ab')_2$-Moleküle weder die Synthese noch steigern sie den Katabolismus der körpereige-

nen Immunglobuline. Die Belastung des Organismus bleibt geringer, weil nicht gebrauchte Antikörper aufgrund der kurzen biologischen Halbwertszeit rasch abgebaut und ausgeschieden werden. Diese Gründe sprechen für den therapeutischen Einsatz von $F(ab')_2$-Präparationen z.B. bei Infektionskrankheiten (164).

Mit ungespaltenem IgG läßt sich über längere Zeit ein bestimmtes Reservoir an Antikörpern im Blut aufrechterhalten. Dies wird durch den Einfluß des Fc-Teils auf Bildung, Verweildauer und Abbau der Antikörper erreicht. Wird außerdem eine Aktivierung der humoralen Systeme gewünscht, so sind ungespaltene IgG-Präparationen die Mittel der Wahl. Diese Gründe sprechen für den prophylaktischen Einsatz bei Gesunden oder für die Substitution bei Hypo- oder Agammaglobulinämie (50, 164).

3. Klinische Anwendung von Immunglobulinpräparationen

Eine Empfehlung für eine Standarddosierung kann nicht gegeben werden, weil die zu applizierende Menge von der Höhe des IgG-Serumspiegels, vom Alter und vom Abwehrvermögen des Patienten, sowie vom Infektionsrisiko abhängig ist. Außerdem muß die Art und der Schweregrad des Krankheitsbildes mit berücksichtigt werden (40, 175).

Zur Antikörpersubstitution bei primärem und sekundärem Antikörpermangelsyndrom werden je nach Hersteller 0,5 bis 3 ml Immunglobulin pro kg Körpergewicht ein bis zweimal monatlich empfohlen (14, 35, 82).

Für die Behandlung viraler und bakterieller Infekte, die häufig auch nach operativen Eingriffen und Chemotherapien auftreten, wird die hochdosierte Anwendung empfohlen, also bis zu 6 ml/kg Körpergewicht, in besonders schwer zu beherrschenden Fällen noch mehr (16, 140, 175).

Zur Prophylaxe infektionsgefährdeter Personen liegt die Empfehlung bei 0,5 bis 1 ml/kg Körpergewicht, zur Rötelnprophylaxe bei etwa 4 ml/kg Körpergewicht (5, 140, 175).

3.1. Antikörpermangelsyndrom (AMS)

Primäres AMS:
Eine klassische Indikation für die Anwendung polyvalenter Immunglobulinpräparate ist das primäre Antikörpermangelsyndrom. Probleme, die durch intramuskuläre Verabreichung entstehen, wie Schmerzen, Blutungen, Nervenschädigungen u.a., haben in Deutschland und in der Schweiz schon vor zwanzig Jahren zur Entwicklung intravenös applizierbarer Immunglobulinpräparationen geführt (68, 93, 116, 158).

Die Substitutionsbehandlung umfaßt sowohl Therapie als auch Prophylaxe. Zu Beginn werden Pathogene Keime entfernt, d.h. der "Antigen-Overload" wird korrigiert. Später tritt der prophylaktische Aspekt in den Vordergrund, indem es neue akute Infekte zu verhindern gilt (30, 86, 116). AMS-Patienten zeigen häufig schwere Unverträglichkeitserscheinungen. Darauf ist bei der Wahl des Präparates und dessen Verarbeitung besonders zu achten (7, 8).

Sekundäres AMS:
Bei Patienten mit sekundärem AMS durch lymphatische Systemerkrankungen wie z.B. akute oder chronische lymphatische Leukämie, Morbus Waldenström und multiples Myelom können bereits bestehende infektiöse Komplikationen therapiert werden (18, 72, 99, 143). Es gibt jedoch weder bei akuten noch chronischen Leukämien harte Daten, welche den therapeutischen oder prophylaktischen Einsatz von Immunglobulinen zwingend vorschreiben. Eine Indikation kann gestellt werden, wenn bei stark erniedrigten Antikörperspiegeln die üblichen antiinfektiöse Therapie mit Antibiotika nicht ausreicht (153).

3.2. Autoimmunerkrankungen

Auf Autoimmunerkrankungen wie z.B. idiopathische thrombozytopenische Purpura (ITP), chronische Polyarthritis und Myasthenia gravis zeigen hochdosierte intravenös applizierte 7S-Immunglobuline einen günstigen Einfluß auf den Krankheitsverlauf. Diese Therapie weist sich neben den bisher angewendeten Therapieformen wie Zytostatika, Steroide und Splenektomie als zusätzliche Möglichkeit aus und erscheint außerdem eher für eine Notfall- bzw. Akuttherapie geeignet als für eine Dauertherapie (84, 93, 144, 149).

3.3. Plasmapherese

Überlegungen für eine Substitution mit intravenös applizierbaren 7S-Immunglobulinen nach großvolumigem Plasmaaustausch basieren auf Veränderungen immunologischer Reaktionsmechanismen nach Plasmaseparation, auf den immunmodulierenden Aktivitäten von Antikörperpräparationen und der Infektionsprophylaxe (37, 49). Eine Therapiestudie wurde bislang nicht systematisch durchgeführt (83, 93).

3.4. Chirurgie

Durch Anästhesie und Operation kommt es sowohl zum Absinken der B-Lymphozytenzahl als auch zu einer Verminderung der Aktivität dieser Zellen (64). Die zellulären Abwehrlmechanismen zeigen ebenfalls eine geringere Aktivität (23, 180). Im Vordergrund steht die Beseitigung der ätiologischen Faktoren der Immunsuppression, wie z.B. die Anwendung von Epiduralanästhesie oder die Vermeidung jeder katabolen Stoffwechselsituation (22, 131). Eine präoperative Substitution mit Immunglobulinen kommt bei Patienten mit Abwehrschwäche in Betracht, also bei (41, 42, 43 44):

- Immundefekten
- hohem Lebensalter
- Infektionen
- kurzfristigen Re-Eingriffen
- Antibiotika-Therapie
- Zytostatika-Therapie
- Strahlen-Therapie
- extremer Katabolie

3.5. Chemotherapie

Eine Tumortherapie ist dann erfolgreich, wenn auch die während der Myelosuppressionsphase auftretenden Infektionen beherrscht oder gar vermieden werden. Diese Phase wird durch bakterielle Dekontamination, systemischer Antibiotika- und Granulozytentransfusionen zu überbrücken versucht. Seit einigen Jahren bietet sich die prophylaktische Gabe von polyvalenten Immunglobulinen als zusätzliche Möglichkeit an. In Einzelstudien konnte eine signifikante Reduktion von bakteriellen Infektionen gezeigt werden. Es liegen bisher noch keine kontrollierten Studien, sondern nur Einzelbeobachtungen vor (71, 99, 150, 151).

3.6. Bakterielle und virale Infektionen

Untersuchungen an Tiermodellen zeigen, daß bei bakteriellen Infektionen die Überlebensrate größer ist, wenn eine kombinierte Behandlung mit Antibiotika und Immunglobulinpräparaten angewendet wird, als bei Kontrollgruppen, die entweder nur mit Antibiotikum oder Immunglobulin allein behandelt wurden. Die frühzeitige kombinierte Behandlung erweist sich auch beim Menschen als überlegen. Ein Grund dafür ist das verstärkte Auftreten antibiotikaresistenter Erreger. In weiteren Tierversuchen zeigte sich die Über-

legenheit von Hyperimmunglobulin gegenüber polyvalentem Immunglobulin (33, 158, 173).

Ein günstiger Effekt der Immunglobulintherapie wurde beim Menschen u.a. bei Infektionen durch Herpesviren, Rötelnviren, Hepatitis-B-Viren, Meningocephalitis- und Tollwutviren beschrieben. Das Angehen der Virusinfektion konnte zwar nicht immer verhindert werden, oft jedoch die Inkubationszeit verlängert und die klinischen Symptome abgeschwächt werden. Voraussetzung hierfür ist die rechtzeitige Gabe und eine genügend hohe Dosis (82, 85, 145, 158). IgG-Präparationen ermöglichen die passive Immunisierung gegen Hepatitis A und Masern und sofern keine speziellen Immunglobuline bereitstehen, gegen andere endemisch vorkommende Virusinfektionen (140).

4. Nebenwirkungen

Bei intravenöser Applikation von 7S-Immunglobulinen können Unverträglichkeitsreaktionen wie Kopfschmerzen, flushartige Rötungen des Gesichts, Oppressionsgefühl auf der Brust, Angstgefühl, Dyspnoe, Fieber, Schüttelfrost, Übelkeit und Kreislaufkollaps mit Bewußtlosigkeit auftreten (50). Diese Nebenwirkungen werden in anaphylaktoide und phlogistische Reaktionsformen eingeteilt (63).

4.1. Anaphylaktoide Reaktion

Man vermutet, daß hier die Entzündungsmediatoren genauso freigesetzt werden, wie bei der anaphylaktischen Reaktion, mit der Begründung, daß ähnliche Mediatorsysteme ähnliche klinische Zeichen hervorrufen (158). Anaphylaktoide Reaktionen beim Einsatz von Immunglobulinen treten hauptsächlich bei AMS-Patienten auf, sind jedoch grundsätzlich bei

jeder Person möglich (33). Als Mechanismus werden sowohl die Freisetzung von Entzündungsmediatoren, als auch eine spontane Komplementaktivierung und dadurch die Bildung von Anaphylatoxinen (C3a, C5a) vermutet. Die klassischen Symptome treten rasch binnen Minuten nach Behandlungsbeginn auf (63, 68, 181).

Als auslösende Ursachen werden diskutiert (33, 63, 164, 168):

- Antikörper gegen IgG-Determinanten auf der schweren und leichten Kette des Moleküls
- Antikörper gegen Serum-IgA
- erhöhter Spiegel an Serum-IgE
- eventuell im Präparat enthaltene Konservierungsmittel
- unspezifische Komplementaktivierung per se
- unspezifische Komplementaktivierung, thrombozytäre Serotoninausschüttung und leukozytäre Histaminausschüttung bei erhöhtem Aggregatgehalt der Präparation
- pharmakodynamische Wirkung des vasoaktiven Präkallikrein-Aktivators

4.2. Phlogistische Reaktion

Die phlogistische Reaktion beruht wahrscheinlich auf der passageren Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen und der Aktivierung nachgeordneter Reaktionsmechanismen bei Patienten mit antigen-overload, in deren Organismus innerhalb kurzer Zeit große Mengen exogene spezifische Antikörper gelangen (161, 162, 172). Die erhöhte Zahl der entstehenden Immunkomplexe überlastet die humoralen, anti-entzündlich wirkenden Regulationsmechanismen, und es treten lokale und systemische Entzündungserscheinungen auf (163). Verursacht werden diese Entzündungserscheinungen durch direkte und indirekte Wechselwirkungen der Immunkomplexe mit Zelloberflächenrezeptoren und mit humoralen Systemen (siehe Abb. 4).

direkt	indirekt
Fc-Rezeptoren Granulozyten Makrophagen Thrombozyten Lymphozyten	Exozytose Lysozym lysosomale Enzyme basische Peptide Serotonin Histamin
	Immunregulation
	Phagozytose
Komplementsystem	Komplementrezeptoren Granulozyten Makrophagen Lymphozyten
Hageman-Faktor	Kininsystem
	Gerinnungssystem
	Fibrinolyse

Abb. 4: Interaktion von Immunkomplexen mit humoralen und zellulären Systemen (163)

Die Immunkomplexe werden von Makrophagen und Granulozyten phagozytiert. Dabei spielt für die Unterhaltung der phlogistischen Reaktion die Exozytose von Enzymen an Granulozyten eine wesentliche Rolle. Die Exozytose ist bedingt durch die Effektorfunktion des Fc-Teils der am Immunkomplex beteiligten Antikörper (80, 172). Deshalb liegt es nahe, daß diese Art der Nebenwirkung nur von 7S-Ig-Präparationen hervorgerufen werden kann, deren Effektorfunktionen durch Modifikation des Fc-Teils nicht oder nur gering beeinträchtigt sind (63). Die klinischen Symptome einer phlogistischen Reaktion treten nach 1 - 4 Stunden oder noch später auf (63). Außerdem wirken Immunkomplexe auf das Immunsystem sowohl suppressiv als auch stimulierend (164, 172).

III. Untersuchte Parameter

1. Kallikrein-Kinin-System

Frey (54) beschrieb 1925 ein neues blutdrucksenkendes Prinzip, das er im Urin entdeckte. Keiner der bisher bekannten Harnsubstanzen konnte diese Wirkung zugeschrieben werden. Später gelang es, dieses sogenannte "Kreislaufhormon" aus Pankreasextrakten zu isolieren (97).

Die Kallikreine werden aus ihren inaktiven Vorstufen, den Präkallikreinen freigesetzt. Unterschiedliche physiko- und immunchemische Eigenschaften haben zur Unterscheidung von Plasma-Kallikrein und glandulärem Kallikrein geführt. So bewirkt Plasma-Kallikrein durch limitierte Proteolyse die Freisetzung von Bradykinin aus high molecular weight (HMW) Kininogenen; Kallidine werden durch die Wirkung von glandulären Kallikreinen aus low molecular weight (LMW) Kininogenen gebildet (52, 67).

Plasma-Kallikrein, das normalerweise als Plasma-Präkallikrein vorliegt, ist ein basisches Glykoprotein mit einem mittleren Molekulargewicht von 95 000 (56, 61). Die Plasmakonzentration beträgt 9 - 11 mg/dl (73). Plasma-Präkallikrein, das vorwiegend aus der Leber stammt, ist ein einkettiges Gammaglobulin, das ohne Änderung im Molekulargewicht zu einem zweikettigen Molekül aktiviert wird. Glanduläre Kallikreine stellen saure Glykoproteine dar, deren uneinheitlichen Molekulargewichte (24 000 bis 43 600) auf unterschiedliche Kohlehydratanteile zurückzuführen sind (56, 61).

Plasma-Kallikrein besitzt eine wesentliche Funktion im Bereich des Gerinnungssystems. Auf Grund neuerer Untersuchungen ist es dabei von zentraler Bedeutung in der Kon-

taktphase der Hämostase, indem es zusammen mit HMW-Kininogen (Fitzgerald-Faktor) die Oberflächenaktivierung von Faktor XII (Hageman-Faktor) katalysiert (24, 96). Umgekehrt wird auch Plasma-Kallikrein durch den Hageman-Faktor aktiviert. Über diesen sich selbst antreibenden Mechanismus erfolgt die Induktion des Intrinsic-Systems der Gerinnung (26, 27, 95, 122).

Gleichzeitig besteht direkt, Kallikrein aktiviert Plasminogen und über den Hageman-Faktor, eine enge Beziehung zur Fibrinolyse (24, 95, 108, 152). Jedoch muß ein angeborener Präkallikreinmangel zu keiner klinisch relevanten Blutungsneigung führen (101).

Die blutdrucksenkende Wirkung der Kallikreine wird u.a. durch die Kininogenaseeigenschaft erklärt. Kinine setzen Prostaglandine frei, können Katecholamine von den adrenergen Rezeptoren verdrängen (67) und behindern die Angiotensin II-Bindung, indem sie mit Angiotensin I um die Kininase II konkurieren (46). Der wesentliche Einfluß der Kinine auf Nierenfunktion und Blutdruckregulation scheint jedoch hauptsächlich über die Wirkung auf die Prostaglandinsynthese zustandezukommen und weniger durch die Beeinflussung der Angiotensin II-Bildung (113). Ein Zusammenhang zwischen dem Präkallikreinspiegel des Blutes und Hypertonie ist möglicherweise auch dadurch gegeben, daß Plasma-Kallikrein das Prorenin aktiviert (160).

Im Stoffwechselgeschehen dürften Kinine auch von Bedeutung sein. So konnte gezeigt werden, daß der Kohlehydratstoffwechsel unter normalen und pathologischen Bedingungen von ihnen beeinflußt wird. Nach Gabe von Schweine-Pankreas-Kallikrein fand eine Förderung der muskulären Glukoseaufnahme bei Altersdiabetikern statt (183). Ebenso normalisierte sich der Befund bei Patienten mit essentieller Hypertonie und herabgesetzter Ausscheidung von Urin-Kallikrein (124).

Insulin ist ein Inhibitor der Kininase II. Somit besteht möglicherweise ein Zusammenhang zum Kallikrein-Kinin-System und den erhöhten Plasma-Präkallikreinspiegeln bei mit Insulin behandelten Diabetikern (67).

Schließlich bestehen Beziehungen zur immunologischen Abwehr, indem Kallikrein die erste Komplementkomponente aus ihrer inaktiven Vorstufe freizusetzen vermag (34).

Bei verschiedenen Krankheitsbildern zeigen sich charakteristische Änderungen des Plasma-Präkallikreinspiegels: Erhöhte Werte finden sich bei unkomplizierter Schwangerschaft, Diabetes mellitus und bei essentieller Hypertonie. Erniedrigte Werte sind bei schwerer Lebererkrankung, fortgeschrittener Niereninsuffizienz mit und ohne Hypertonie, sowie bei schweren entzündlichen Krankheitsbildern, Verbrauchskoagulopathien und Tumorleiden beobachtet worden (24).

2. C1-Inhibitor

C1-Inhibitor ist ein einkettiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 96 000 - 104 000 und 35 % Kohlenhydratanteil (126). Die Serumkonzentration beträgt 23,5 $\pm$ 3 mg/dl (76).

Das Protein C1-Inhibitor war ursprünglich als Inhibitor der ersten Komplementkomponente identifiziert worden (106, 129); es ist heute der einzig bekannte Plasmainhibitor von $C\bar{1}s$ und $C\bar{1}r$ (174). Diese beiden Untereinheiten bilden mit dem C1-Inhibitor reversible Komplexe (4, 169). Die Reaktion wird durch Heparin verstärkt (169). Durch die Hemmung der ersten Komplementkomponente besteht eine direkte Beziehung zum Immunsystem.

Der C1-Inhibitor greift in das Kallikrein-Kinin-System ein, indem er durch Bildung stabiler, irreversibler Komplexe mit Plasma-Kallikrein dieses inaktiviert (65, 141, 142). Heparin scheint diese Reaktion nicht zu beeinflussen (174). Der C1-Inhibitor beeinflußt dadurch die Blutdruckregulation, die Blutgerinnung, die Fibrinolyse, über das Komplementsystem das Immunsystem und den Kohlenhydratstoffwechsel (siehe dazu Kapitel II. 1.). Diese Aufgaben teilt sich der C1-Inhibitor mit $Alpha_2$-Makroglobulin zu etwa gleichen Teilen, wobei $Alpha_2$-Makroglobulin zwar in größerer Konzentration vorkommt, jedoch langsamer reagiert (141, 174).

Über die Hemmung der aktivierten Gerinnungsfaktoren XIa und XIIa greift der C1-Inhibitor in das Intrinsic-System der Blutgerinnung ein (53, 95). Gleichzeitig bildet C1-Inhibitor mit Plasmin stabile Komplexe, aber eine Hemmung der Plasminaktivität konnte nicht festgestellt werden (70, 130).

Der C1-Inhibitor nimmt auch Einfluß auf den permeabilitätsteigernden Faktor, PF/Dil genannt, indem er dessen Bildung hemmt und seine Aktivität der Permeabilitätssteigerung etwas herabsetzt (92, 130, 159).

Bei Patienten mit hereditärem angioneurotischem Ödem läßt sich ein angeborener Mangel dieses Proteins nachweisen (38, 123, 177). Dies läßt vermuten, daß die Hauptaufgabe des C1-Inhibitors in der Kontrolle des Komplementsystems und in der Inaktivierung von Plasma-Kallikrein besteht (174).

Sale (139) vertritt die Meinung, daß bei Patienten mit anaphylaktoiden Nebenwirkungen nach intravenösen Ig-Infusionen eine besondere Disposition durch ein latent labiles Kom-

plementsystem vorliegt. Dabei wird an einen temporären Mangel der Kontrollproteine C1-Inhibitor und C5a-Inhibitor gedacht (136).

Eine mögliche Ursache des C1-Inhibitor-Mangels besteht darin, daß dieser an Albumin gebunden sein kann und dadurch inaktiv wird (123).

3. Fibrinogen

Fibrinogen, der erste Faktor der Gerinnungskaskade, ist ein ß-Globulin, bestehend aus zwei Paaren von Alpha-, Beta- und Gamma-Ketten, mit einem Molekulargewicht von etwa 341 000. Die Synthese von Fibrinogen erfolgt unabhängig von Vitamin K in der Leber (57, 95). Die Serumkonzentration beträgt 200 - 450 mg/dl (11).

Thrombin wird bei der Aktivierung des Gerinnungssystems schneller gebildet, als es durch die Inhibitoren Antithrombin III (1, 32), $Alpha_1$-Antitrypsin (59, 62), und $Alpha_2$-Makroglobulin (1, 59) inaktiviert werden kann. Unlösliche Fibringerinnsel entstehen nach der eingeleiteten Umwandlung des Fibrinogens erst über einige Zwischenstufen.

Die Umwandlung in Fibrin erfolgt durch Thrombin über die paarweise Freisetzung von kurzkettigen Fibrinopeptiden A und B der Alpha- und Beta-Kette (95, 98). Die so entstandenen Fibrinmonomere bilden unter End-an-End und Seit-an-Seitanlagerung Polymerstränge. Dieser Vorgang ist abhängig von der Gegenwart des Fibrinopeptids A, Calciumionen und dem aktiven Faktor XIIIa, der als Katalysator wirkt (91, 95). Erreichen diese Komplexe eine Größe, bei welcher sie durch Carrierproteine wie Fibrinogen und Fibrinogenspaltprodukte nicht mehr in Lösung gehalten werden können, so

fällt Fibrin aus, wodurch es zur Entstehung von Mikrogerinnsel kommt (118, 119). Durch Heparin kann dieser Polymerisationsprozeß nicht verhindert werden (98, 119).

Im strömenden Blut findet ständig eine latende Gerinnung bzw. Fibrinbildung statt. Dieser ständigen Fibrinbildung steht eine laufende Fibrinolyse gegenüber. Störungen dieses physiologischen Gleichgewichtes können zur intravasalen Mikrothrombenbildung oder zur hämorrhagischen Diathese führen (91, 152).

Bei Gewebsschädigungen durch Narkose, bei Tumorleiden und bei akuten Infekten (Sepsis) kommt es zur akut entzündlichen Dysproteinämie: einem erhöhten Plasmaspiegel an Fibrinogen und Alphaglobulinen bei gleichzeitig verringerter Albuminkonzentration im Blut (2. 110).

4. Antithrombin III

Bereits Alexander Schmidt (148) postulierte 1890 eine Antikoagulansaktivität im Plasma. Von Morawitz (114) wurde diese wahrscheinlich gemacht und als Antithrombin bezeichnet. Astrup (6) differenzierte 1943 zwischen Progressivantithrombin und Sofortantithrombin. Fell et al (51) führten 1954 die Benennungen AT I = Fibrin, AT II = Heparin-Kofaktor und AT III ein. Heimburger (75) konnte 1967 nachweisen, daß das AT III bzw. des Progressivantithrombin des Plasmas mit dem Heparin-Kofaktor, der zuvor AT II genannt wurde, identisch ist.

Antithrombin III ist ein $Alpha_2$-Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von etwa 65 000 und einem Kohlenhydratanteil von 15 % (100, 120, 171, 176). Die normale Serumkonzentration des in der Leber (112, 176) synthetisierten

Inhibitors beträgt 29 mg/dl (76, 174) bzw. 21 - 28 U/ml (20).

Der wichtigste Inhibitor der Gerinnungsfaktoren ist Antithrombin III (66, 95, 104 121). Es kontrolliert fast jede Stufe der Gerinnungskaskade. Es hemmt sowohl die Serinprotease Thrombin, als auch den Faktor Xa und mit geringerer Aktivität auch alle übrigen Serinproteasen des Gerinnungssystems: Faktor XIIa, Kallikrein, Faktor XIa, Faktor IXa und in Gegenwart von Heparin auch Faktor VIIa; außerdem noch Plasmin, Trypsin, Akrosin und Urokinase (79, 112, 171, 176). Die Reaktion mit den Enzymen erfolgt im Verhältnis 1 : 1 und ist irreversibel (95, 171).

Zur Aufrechterhaltung der Hämostase stehen den aktivierenden Gerinnungsfaktoren Inhibitoren gegenüber. Die Summe der molaren Konzentrationen der einzelnen prokoagulatorischen Faktoren ist gleich der molaren Konzentration von AT III im Plasma (76).

Sinkt die Plasmakonzentration von AT III auf einen Wert unter 70 - 80 % der Norm, kommt es bereits zu einer klinisch bedeutsamen Verschiebung des hämostatischen Gleichgewichtes in Richtung Thromboseneigung (103, 176).

Das saure Mukopolysaccarid (sMPS) Heparin und auch in geringem Ausmaß die gewebeständigen sMPS Heparin- und Dermatansulfat bewirken katalytisch eine Beschleunigung der Reaktion des AT III mit den Serinproteasen um ein Vielfaches. Aus der progressiven langsamen Antithrombinwirkung wird eine Sofortantithrombinwirkung (112, 171). Nach erfolgter Inhibitorreaktion löst sich das sMPS vom inaktiven Komplex und steht erneut zur Aktivierung zur Verfügung (17, 135). Das Heparin kann durch Protamin vom AT III-Molekül gelöst werden; das verbleibende AT III ist dann wieder progressiv wirksam (167).

Da endogenes Heparin im Blut nur in Spuren nachweisbar ist, muß die physiologische Hauptfunktion der Sofortantithrombinaktivität dort vermutet werden, wo Heparin und andere antikoagulatorische sMPS in höheren Konzentrationen vorkommen. Dies ist vor allem das Gefäßendothel, das Heparinsulfat synthetisiert und zirkulierendes Heparin rasch bindet (171). Dadurch stellt es ein Devensivum gegen generalisierte Koagulationsabläufe in vasis dar, ohne die am Ort der Gewebsverletzung unerläßliche Sofortthrombinwirkung auf Blutplättchen und Fibrinogen unmöglich zu machen (112, 178).

Der AT III-Heparin-Komplex wird schneller aus dem Blut eliminiert als freies AT III (135). Deshalb kommt es bei einer längeren Behandlung mit Heparin zu einem verringerten AT III-Spiegel und somit zu nachlassender Hemmwirkung des Heparins auf die Gerinnungsfaktoren (32, 111).

Neben dem hereditären AT III-Mangel sind heute viele Krankheitsbilder mit erworbenem AT III-Mangel bekannt. Besonders ausgeprägt ist der AT III-Verbrauch bei jeder Form der Verbrauchskoagulopathie und vor allem während der Sepsis (60, 103, 147, 171).

5. Plasminogen

Plasminogen ist ein einkettiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 93 000 und einem Kohlenhydratanteil von 2 % (56). Die normale Serumkonzentration beträgt 6 - 25 mg/dl (11).

Der kompensatorische Mechanismus zur Blutgerinnung ist die Fibrinolyse. Die zentrale Rolle in diesem Prozeß spielt Plasmin. Plasminogen kann auf verschiedene Weise, endogen

oder exogen zu Plasmin aktiviert werden (108), das seine proteolytische Wirkung auf Fibrin und dessen Vorstufen entfaltet (95, 152).

Die Aktivierung von Plasminogen erfolgt exogen über Urokinase oder Streptokinase, die aus therapeutischen Gründen infundiert sein können, und endogen durch den Hageman-Faktor (Faktor XIIa), der durch die Aktivierung von Präkallikrein zu Kallikrein den Plasma-Aktivator des Plasmin aus seiner inaktiven Stufe freisetzt (29, 108). Dieser setzt daraufhin Plasmin aus Plasminogen frei. Auf diese Weise führt jede Aktivierung des Intrinsic-Systems der Blutgerinnung gleichzeitig zu einem Verbrauch an Plasminogen.

Im Plasma tritt normalerweise keine systematische Aktivierung von Plasminogen auf, und Plasmin, falls es entsteht, wird wirkungsvoll durch $Alpha_2$Antiplasmin inaktiviert. Wenn sich intravasculär Fibrin bildet, wird daran Plasminogen fixiert. Der im Blut vorhandene Plasma-Aktivator wird fest an das Fibrin gebunden und aktiviert das Plasminogen in situ. Das an den Fibrinkomplex gebundene Plasmin wird nur langsam durch $Alpha_2$-Antiplasmin inaktiviert, während das von abgebautem Fibrin freigesetzte Plasmin schnell und irreversibel neutralisiert wird (108).

Außer Antiplasmin, dem wichtigsten Plasmininhibitor (170), spielen auch heparinaktiviertes Antithrombin III (78, 133), der C1-Inhibitor (70), $Alpha_1$-Antitrypsin (59, 62) und $Alpha_2$-Makroglobulin (45, 69, 78) bei der Regulation der Fibrinolyse eine Rolle. Fibrinopeptide verursachen eine negative Rückkopplung, sie hemmen die Thrombinwirkung und die Polymerisation der Fibrinmonomeren (95).

6. Präalbumin

Vor dem Albumingradienten wandern in der Elektrophorese bei pH 8,6 eine Gruppe von Proteinen, die Präalbumine (91). Zwischen Präalbumin und Albumin bestehen strukturell und funktionell keine Zusammenhänge. Das Wort Präalbumin bedeutet, daß das Protein eine höhere elektrophoretische Beweglichkeit besitzt als Albumin (128).

Präalbumin hat ein Molekulargewicht von etwa 61 000, der Kohlenhydratanteil beträgt 0,4 % und die Konzentration im Plasma liegt bei 10 - 40 mg/dl (95).

Präalbumin transportiert sowohl ein Hormon als auch ein Vitamin. Während Thyroxin direkt an das Präalbuminmolekül gebunden wird, ist Retinol indirekt über ein spezifisches Trägerprotein, das retinolbindende Protein, mit Präalbumin verbunden (152, 159). Die Bildung dieses sehr lockeren Protein-Protein-Komplexes verhindert, daß das niedermolekulare retinolbindende Protein rasch durch die Niere ausgeschieden wird (159).

Ein erhöhter Präalbuminspiegel findet sich bei gesteigerter Nebennierenrindentätigkeit. Bei Erkrankungen des Leberparenchyms sinkt auf Grund der verminderten Syntheserate die Plasmakonzentration von Präalbumin (91).

7. Albumin

Mit 50 - 60 % ist Albumin die Hauptfraktion der Plasmaeiweißkörper. Das in der Leber synthetisierte Albumin ist ein reines Protein mit einem Molekulargewicht von rund 69 000. Nur etwa 40 % der gesamten Albuminmenge befinden sich im Plasma, 60 % sind im Extrazellulärraum verteilt

(91, 152, 157, 182). Die Plasmakonzentration beträgt 3500 - 5500 mg/dl (159).

Wegen der großen Konzentration und der Kleinheit der Moleküle ist Albumin für nahezu 80 % des kolloidosmotischen Druckes verantwortlich und hält somit das Blutvolumen konstant (91, 152).

Dank der geringen Molekülgröße besitzt das Albumin eine sehr große Gesamtoberfläche. Außerdem hat es die Fähigkeit, viele Stoffe reversibel binden zu können. Es kann deshalb die Transport- und Vehikelfunktion übernehmen. Neben körpereigenen Substanzen wie Hormone, höhere Fettsäuren, Bilirubin, Urobilin und Harnsäure, können körperfremde Substanzen wie Medikamente, Vitamin C, Farbstoffe, Sulfonamide und Metallionen gebunden werden (110, 152).

Ionisiertes Calcium und an Albumin gebundenes Calcium befinden sich in einem Gleichgewicht. Deshalb kann bei hochgradiger Hypalbuminämie eine Hypocalcämie entstehen (91).

Die Bindung niedermolekularer Substanzen an Albumin macht sie osmotisch unwirksam und erhöht dadurch die osmotische Kapazität für stoffwechselaktive Substanzen und damit indirekt den Stoffaustausch zwischen Blut und Gewebe (91).

An proteingebundene Substanzen werden vor dem Angriff der im Blut befindlichen Enzyme geschützt (91). Andererseits kann dies zu einem Mangel der betreffenden Substanz führen, da sie inaktiv ist, solange sie an Albumin gebunden ist. Opferkuch (123) nennt dies als eine mögliche Ursache des C1-Inhibitormangels.

Aufgrund der hohen Konzentration von Albumin sowohl im Intra- als auch Extrazellulärraum stellt es eine Eiweiß-

reserve für den Organismus dar (95).

Akute Infekte (Sepsis), Gewebsschädigungen und Tumorleiden verursachen eine akut entzündliche Dysproteinämie: eine verringerte Albuminkonzentration im Blut bei gleichzeitig erhöhtem Plasmaspiegel an Alphaglobulinen und Fibrinogen (2, 110, 137). Ein stark erniedrigter Serumalbumingehalt liegt außerdem vor bei Eiweißmangelernährung, dem Syndrom der blinden Schlange, Alkoholismus, Leberzirrhose, nephrotischem Syndrom und Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes (137, 182).

Bei therapeutischer Gabe von Albumin, sei es in Form von Albuminpräparaten oder albuminstabilisierten Immunglobulinpräparationen besteht bei extrem hoher Dosierung zumindest theoretisch die Möglichkeit einer Volumenüberlastung durch den onkotischen Druck des zugeführten Albumins (35). Bei Zufuhr von Albumin steigt die prozentuale Abbaurate langsam an, was bei der Albuminsubstitution bei chronischen Erkrankungen zu berücksichtigen ist (182).

IV. Material und Methoden

1. Material

Zur Verfügung standen 7S-Gammaglobulinpräparationen acht verschiedener Firmen, die mit den Buchstaben a - h gekennzeichnet wurden. Pro Hersteller wurden 20 Flaschen, je 10 mit gleicher Chargennummer, auf den Gehalt der oben genannten Plasmaproteine untersucht. Die Präparate der Firmen c, d und h sind in flüssigem Zustand im Handel. Die anderen Präparate sind gefriergetrocknet und werden in beigefügten Flüssigkeiten gelöst.

Die photometrischen Bestimmungen wurden mit einem Photometer Typ PL4 von Carl Zeiss, Oberkochen, durchgeführt. Dazu wurden Halbmikro-, bzw. Makro-Einmalküvetten verwendet. Die Bestimmung von Fibrinogen erfolgte mit dem Coagulometer Typ Biomatic 2000 der Firma Sarstedt.

Die quantitativen Bestimmungen wurden mit dem Laser-Nephelometer der Firma Behring durchgeführt. Verwendet wurden hierzu Universalküvetten Typ LN120 der Firma Behring und Filter Typ Acrodisc mit 0,45 µm Poren der Firma Gelman. Die Auswertung der Meßergebnisse erfolgte auf einem HP 85 Rechner von Hewlett Packard.

Präkallikrein, Kallikrein-Like-Activity, Kallikrein-Inhibitor-Activity, Antithrombin III und Plasminogen wurden mittels chromogener Substrate bestimmt. Das Substrat S-2302 (H-D-Pro-Phe-Arg-pNA·HCl) der Deutsche Kabi GmbH, München, wurde zur Bestimmung der Präkallikreinaktivität, der Kallikrein-Like-Activity und der Kallikrein-Inhibitor-Activity eingesetzt.

Mit dem Substrat Chromozym TH (Tos-Gly-Pro-Arg-pNA·AcOH) der Firma Boehringer Mannheim GmbH, wurde die Antithrombin III-Aktivität gemessen.

Das Substrat S2251 (H-D-Val-Leu-Lys-pNA·2HCl) der Deutsche Kabi GmbH, München, kam zur Bestimmung von Plasminogen zur Anwendung.

Präkallikrein wurde mit Plasma-Präkallikrein-Aktivator der AB Kabi Diagnostica, Stockholm, zum Kallikrein aktiviert.

Zur Aktivierung von Plasminogen diente Kabikinase (Streptokinase) der Deutsche Kabi GmbH, München.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels des U-Tests nach Whitney für den Vergleich zweier unabhängiger Stichproben (138). Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 0{,}1$ festgelegt. Für die Durchführung danke ich dem Recheninstitut der Universität Tübingen, insbesondere Herrn Schubring.

2. Methoden

Die quantitativen Bestimmungen der Plasmaproteine erfolgte mit Hilfe des Behring Laser-Nephelometers.

Das Gerät verfügt über einen leistungsstarken etwa 5 mW He-Ne-Laser. Zur Anregung wird Licht der Wellenlänge 632,8 nm verwendet. Die Selbstverstärkung erfolgt nicht optisch, sondern indirekt elektrisch durch die selbständige Helium-Neon-Glimmentladung. So wird ein intensives, monochromatisches Licht mit geringer Strahlungsdivergenz erzielt. Das ist eine wichtige Voraussetzung für die Anwendung der Nephelometrie bei immunologischen Messungen. Nephelometrie kommt aus dem griechischen und bedeutet Nebel.

Bei der Photometrie wird die Extinction gemessen, d.h. die Schwächung des Durchlichtes durch Lichtabsorption in der Küvette. Bei der Nephelometrie wird das Licht registriert, welches durch Streuung an Partikeln diffus im Raum verteilt ist. Je nach Wellenlänge und Partikelgröße ergeben sich charakteristische Formen der Intensitätsverteilung des Streulichtes.

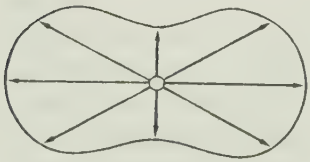

Abb. 5: Fall 1 $\varnothing < \lambda$

Abb. 6: Fall 2 $\varnothing > \lambda$

Intensitätsverteilung des Streulichts nach Behring-Laser-Nephelometrie, Grundlagen (12)

Die Länge der Pfeile ist ein Maß für die Intensität des Streulichtes in dieser Richtung. Für Untersuchungen von Immunkomplexen trifft vor allem der zweite Fall zu: die Immunkomplexe sind größer als die Wellenlänge. Diese Aggregate haben keine definierte Größe, sie "wachsen" und beginnen bei bestimmter Größe zu sedimentieren.

Die in Abb. 6 dargestellte "Intensitätskeule" veranschaulicht, daß es sinnvoll ist, das Vorwärtsstreulicht zu messen. Das direkte Streulicht wird vom Anregungslicht überlagert und ist deshalb schwer meßbar. Im Behring Laser-Nephelometer wird dieses Primärlicht in einer Lichtfalle eliminiert. Das Vorwärtsstreulicht wird aus technischen Gründen im Raumwinkel von 5° bis 12° gemessen.

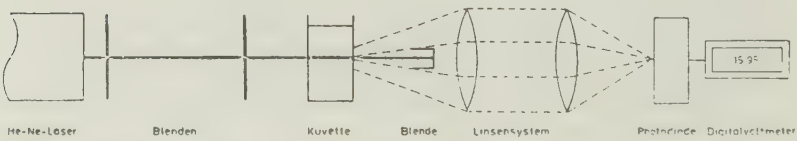

Abb. 7: Strahlengang im Laser-Nephelometer in Anlehnung an Behring-Laser-Nephelometrie, Grundlagen (12)

Mit der in Abb. 7 gezeigten Anordnung erhält man ein grosses Nutzsignal, das eine Verstärkung mit einem Photomultiplier überflüssig macht; dieser würde nämlich auch das Untergrundsignal verstärken. Beim Behring Laser-Nephelometer wird das in Vorwärtsrichtung gestreute Licht mit einem Linsensystem auf eine Photodiode gebündelt. Das Photodiodensignal wird mit einem Digitalvoltmeter nachgewiesen (10, 12, 13).

Die so registrierte Streulichtintensität ist bei vorgegebener Antikörperkonzentration proportional der Antigenkonzentration in der Küvette. Die Proportionalität gilt nur innerhalb bestimmter Konzentrationsbereiche. Bei Antigen-Antikörper-Reaktionen in wässrigen Lösungen lassen sich drei wichtige Konzentrationsbereiche unterscheiden, die graphisch durch eine sogenannte Heidelberger Kurve dargestellt werden können (74).

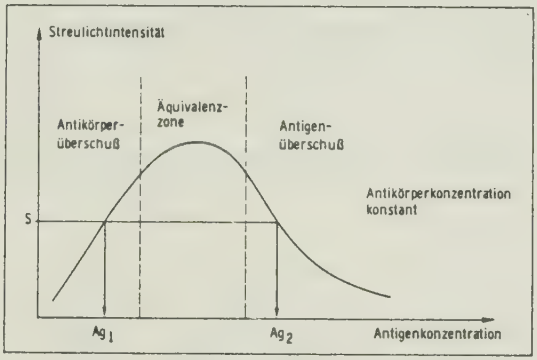

Abb. 8: Immunpräzipitationskurve nach Heidelberger und Kendall (74)

Bei steigender Antigenkonzentration erfolgt in Gegenwart einer konstanten Menge der Antiserumlösung zunächst eine stetige Zunahme der Immunkomplexbildung, und das Streulichtsignal steigt an. Nur dieser ansteigende Kurventeil im Antikörperüberschußbereich liefert zuverlässige Meßwerte für quantitative Bestimmungen. Nach Überschreiten des Kurvengipfels, also der Äquivalenzzone, kommt es im Antigenüberschuß wieder zu einer Auflösung der Immunpräzipitate, und die Streulichtintensität sinkt. In der Äquivalenzzone und im Antigenüberschußbereich existiert keine definierte Beziehung mehr zwischen Antigenkonzentration und Lichtstreuung.

Die Frage, welchem Ast der Kurve ein Meßwert (S) zugeordnet ist, läßt sich durch weitere Zugabe von Antiserumverdünnung entscheiden: Nur bei Antigenüberschuß steigt das Streulicht erneut deutlich an (154).

Immunologisches Versuchsprinzip (11, 154):
Eine Probe der Ig-Präparation wird mit Antiserum gegen den zu untersuchenden Parameter im Überschuß versetzt. Nach abgeschlossener Reaktion kann die Konzentration der gebildeten Antigen-Antikörper-Komplexe mit Hilfe der Streulichtmessung im Laser-Nephelometer gemessen und über eine Referenzkurve ausgewertet werden.

Protein	Standard Verd.	Antiserum Verd.	Proben Verd.	Standard bzw.Proben Vol. (µl)	Antiserum Volumen (µl)
C1-Inh	1:10 bis 1:320	1:5	1:41	100	200
Fibrinogen	1:10 bis 1:320	1:5	1:101	100	200
AT III	1:2,5 bis 1:40	1:5	1:11	100	200
Plasminogen	1:2,5 bis 1:80	1:5	1:11	100	200
Präalbumin	1:5 bis 1:80	1:5	1:11	100	200
Albumin	1:800 bis 1:12800	1:5	1:2020	100	200
IgG	1:20 bis 1:640	1:5	1:202	10	200

Tab. 3: Arbeitsanleitung zum immunologischen Testverfahren (11)

Testdurchführung (11):
Zur Erstellung der Referenzkurve wird eine bestimmte geometrische Verdünnungsreihe hergestellt. LN-Protein-Standard-Plasma bzw. LN-Protein-Standard-Serum wird dazu mit staubfreier physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Die Antiserumverdünnung beträgt 1:5, die Proben der Ig-Präparationen werden entsprechend der Heidelberger Kurve verdünnt. Die Standardverdünnungen bzw. die Proben werden mit Antiserumverdünnung versetzt, in Längsrichtung der Küvette geschüttelt und eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Die Streulichtintensität wird im Laser-Nephelometer in Volt gemessen. Über die im HP 85 erstellte Referenzkurve kann die Konzentration in mg/dl berechnet werden. Die Qualitätskontrolle erfolgte über LN-Protein-Standard-Plasma bzw. LN-Protein-Standard-Serum und Kontrollplasma für Partigen.

2.1. Kallikrein-Like-Activity

Testprinzip mit chromogenen Substraten (56, 88):
Die Kallikrein-Like-Aktivität katalysiert das Abspalten von Paranitroanilin (pNA) vom Substrat H-D-Pro-Phe-Arg-pNA (S-2302). Die in einer bestimmten Zeit erhaltene Menge pNA, die photometrisch bei 405 nm bestimmt wird, ist proportional zur Kallikrein-Like-Aktivität.

$$\text{H-D-Pro-Phe-Arg-pNA} + H_2O \xrightarrow[\text{Like-Activity}]{\text{Kallikrein}} \text{H-D-Pro-Phe-Arg-OH} + \text{pNA}$$

Abb. 10: Testprinzip der Kallikrein-Like-Activity, Bestimmung mittels chromogener Substrate

Anhand radioimmunologischer Bestimmungen ist es wahrscheinlich, daß sich das glanduläre Kallikrein ebenfalls im Blut nachweisen läßt, sodaß anzunehmen ist, daß mit

Hilfe der chromogenen Peptidsubstrate die Summe aus Plasma-Kallikrein und glandulären Kallikreinen im Blut ermittelt wird (52).'

Reagenzien:
Zur Bestimmung der Kallikrein-Like-Activity wurden Reagenzien der Kabi Vitrum AB, Stockholm, verwendet.

a) Puffer
Der Puffer ist selbst herzustellen. 6,1 g (50 mmol/l) Tris und 6,6 g (113 mmol/l) NaCl werden in 800 ml destilliertem Wasser gelöst. Mit etwa 38 ml 1 molarer HCl wird der pH-Wert bei 25° C auf 7,8 eingestellt. Anschließend wird bis 1000 ml mit H_2O dest. aufgefüllt. Nicht kontaminierter Puffer bleibt bei + 2 bis + 8° C sechs Monate stabil.

b) Substrat
25 mg Substrat werden mit 20 ml destilliertem Wasser gelöst. Die sterile, 2 mmol/l Lösung kann mindestens sechs Monate verwendet werden, wenn sie bei + 2 bis + 8° C aufbewahrt wird.

c) Essigsäure 50 %

Testdurchführung:
200 µl des 1:11 mit Puffer verdünnten Ig-Präparates wird 3 - 4 Minuten im 37° C warmen Wasserbad temperiert. Daraufhin werden 200 µl Substrat S-2302 dazugegeben, geschüttelt und bei 37° C genau 10 Minuten incubiert. Mit 200 µl 50 % Essigsäure wird die Reaktion abgebrochen. Zur Herstellung des Leerwertes werden die Reagenzien in umgekehrter Reihenfolge ohne Inkubation gemischt. Die Extinktion der Probe wird gegen ihren Leerwert bei 405 nm photometrisch bestimmt. Faktor 344 mit der Extinktion multipliziert ergibt die Enzymaktivität in U/l. Die Qualitätskontrolle erfolgte für jede Meßserie mit Humanplasma.

2.2. Präkallikrein

Testprinzip (56, 90):
Faktor XII wird durch einen Kontaktaktivator, der Kollagen und Phospholipid enthält, zum Faktor XIIa aktiviert. Die Aktivierung von Präkallikrein im Plasma geschieht durch F XIIa und high molecular weight (HMW) Kininogen. Um eine genügend hohe Aktivierungsrate des Präkallikreins zu erhalten, sind F XII und HMW Kininogen dem Aktivator beigefügt. Der Gebrauch von verdünntem Plasma und einer kurzen Aktivierungszeit gewährleistet, daß die Methode nur leicht von Kallikreininhibitoren, Plasmin oder F Xa beeinflußt wird (55). Das gebildete Kallikrein katalysiert das Abspalten von pNA vom Substrat H-D-Pro-Phe-Arg-pNA (S-2302). Die in einer bestimmten Zeit erhaltene Menge pNA, die photometrisch bei 405 nm bestimmt wird, ist proportional zur Kallikrein-Aktivität. Die Präkallikreinkonzentration wird über eine Eichkurve, die aus Normalplasmawerten erstellt wird, berechnet. Hierbei wird die Summe aus glandulären Präkallikreinen und Plasma-Präkallikrein bestimmt (24).

1. F XII $\xrightarrow{\text{Kontaktaktivierung}}$ F XIIa

2. Präkallikrein $\xrightarrow{\text{F XIIa + HMW Kininogen}}$ Kallikrein

3. H-D-Pro-Phe-Arg-pNA+H_2O $\xrightarrow{\text{Kallikrein}}$ H-D-Pro-Phe-Arg-OH+pNA

Abb. 11: Testprinzip der Präkallikreinbestimmung mittels chromogener Substrate

Reagenzien:
Zur Bestimmung von Präkallikrein wurden Reagenzien der Kabi Vitrum AB, Stockholm, verwendet.

a) Puffer

6,1 g (50 mmol/l) Tris werden in 800 ml H_2O dest. gelöst. Mit etwa 38 ml 1 molarer HCl wird der pH-Wert bei 25° C auf 7,8 eingestellt. Anschließend wird bis 1000 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Nicht kontaminierter Puffer bleibt bei + 2 bis + 8° C sechs Monate stabil.

b) Substrat

25 mg Substrat werden mit 20 ml H_2O dest. gelöst. Die sterile, 2 mmol/l Lösung kann, wenn sie bei + 2 bis + 8° C aufbewahrt wird, mindestens 6 Monate verwendet werden.

c) Plasma-Präkallikrein-Aktivator

Der Aktivator wird in 5 ml destilliertem Wasser gelöst. Die Lösung ist bei Zimmertemperatur nur wenige Stunden, bei + 2 bis + 8° C 24 Stunden haltbar.

d) Essigsäure 50 %

Testdurchführung:

Zuerst werden 3000 µl Puffer mit 50 µl des Ig-Präparates oder der Verdünnungsreihe gemischt. 200 µl Plasma-Präkallikrein Aktivator werden 3 bis 4 Minuten bei 37° C temperiert. Daraufhin pipettiert man 200 µl der Probe dazu. Nach 2 Minuten bei 37° C werden 200 µl des Substrats S-2302 dazugegeben und genau nach 120 Sekunden wird die Reaktion mit 50 %iger Essigsäure gestoppt. Zur Herstellung des Leerwertes werden die Reagenzien ohne Inkubationszeit in umgekehrter Reihenfolge gemischt. Die Extinktion der Probe wird gegen den Leerwert bei 405 nm photometrisch bestimmt. Der prozentuale Gehalt der Probe an Präkallikrein wird anhand der Eichkurve über den HP 85 bestimmt. Die Qualitätskontrolle erfolgte für jede Meßserie mit Standard-Human-Plasma.

2.3. Kallikrein-Inhibitor-Activity

Testprinzip mittels chromogener Substrate (87):
Wird die zu untersuchende Probe mit einer definierten Menge Plasma-Kallikrein im Überschuß versetzt, so wird ein Teil des Plasma-Kallikrein durch die Kallikrein-Inhibitor-Activity, hauptsächlich C1-Esterase-Inhibitor, gehemmt. Der verbleibende Rest an Plasma-Kallikrein ist umgekehrt proportional zur Kallikrein-Inhibitor-Activity und kann unter Verwendung des Substrats S-2302 (H-D-Pro-Phe-Arg-pNA) bestimmt werden. Die Extinktion der entstandenen Menge an pNA kann photometrisch bei 405 nm bestimmt werden. Die Aktivität des Kallikrein-Inhibitors wird an einer Eichkurve, die aus Normalplasmawerten erstellt wird, abgelesen.

1. Kallikrein-Inhibitor + Kallikrein $\longrightarrow$ (Kallikrein-Inh · Kallikrein) + $\text{Kallikrein}_{\text{Rest}}$

2. H-D-Pro-Phe-Arg-pNA+$H_2O \xrightarrow{\text{Kallikrein}}$ H-D-Pro-Phe-Arg-OH+pNA

Abb. 12: Testprinzip zur Bestimmung der Kallikrein-Inhibitor-Activity mittels chromogener Substrate

Reagenzien:
Zur Bestimmung der Kallikrein-Inhibitor-Activity wurden Reagenzien der Firma Kabi Diagnostica, Stockholm, verwendet.

a) Puffer
6,1 g (50 mmol/l) Tris, 21,1 g (361 mmol/l) NaCl und 20 mg Polybrene werden in 800 ml H_2O dest. gelöst. Mit etwa 38 ml 1 molarer HCl wird der pH-Wert bei 25° C auf 7,8 eingestellt. Anschließend wird bis 1000 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Steriler Puffer bleibt bei + 2 bis + 8° C sechs Monate stabil.

b) Substrat

25 mg Substrat werden mit 20 ml H_2O dest. gelöst. Die sterile, 2 mmol/l Lösung kann, wenn sie bei + 2 bis + 8° C aufbewahrt wird, mindestens sechs Monate verwendet werden.

c) Plasma-Kallikrein

Das Plasma-Kallikrein wird mit 5 ml 0,5 %igem Albumin gemischt. Das Albumin darf keine proteolystische Aktivität zeigen und keine Protease-Inhibitoren enthalten. Die Plasma-Kallikrein-Lösung wird für jede Meßreihe 1 : 2 mit Puffer verdünnt und bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

d) Essigsäure 50 %

Testdurchführung:

Zuerst werden 1900 µl Puffer mit 100 µl Immunglobulin gemischt. 200 µl der Probe werden 3 bis 4 Minuten bei 37° C temperiert. Daraufhin werden 200 µl Plasma-Kallikrein-Lösung dazupipettiert. Nach genau 5 Minuten bei 37° C werden 200 µl Substrat S-2302 dazugegeben und nach genau 4 Minuten wird die Reaktion mit 50 %iger Essigsäure gestoppt. Zur Herstellung des Leerwertes werden die Reagenzien ohne Inkubationszeit in umgekehrter Reihenfolge gemischt. Die Extinktion der Probe wird gegen den Leerwert bei 405 nm photometrisch bestimmt. Der Gehalt der Probe an Kallikrein Inhibitor-Activity wird anhand einer Eichkurve über den HP 85 bestimmt. Die Qualitätskontrolle erfolgte für jede Meßserie mit Standard-Human-Plasma.

Immunologisches Testprinzip: siehe Tabelle 3

2.4. Fibrinogen

Testprinzip (19, 25, 125):
Ein Gerinnungssystem von schwacher Fibrinogenkonzentration und hoher Thrombinkonzentration ist sehr empfindlich auf Schwankungen der ersteren, aber sehr wenig auf Änderungen der letzteren. Daraus läßt sich eine Fibrinogenbestimmungsmethode ableiten, indem man verdünntem Plasma eine Thrombinlösung von konstant hoher Konzentration zusetzt und die Gerinnungszeit mißt. Die Wirkung des Antithrombins kann bei diesem Konzentrationsverhältnis vernachlässigt werden.

Reagenzien:
Zur quantitativen Fibrinogenbestimmung wurde das Fibrinogen-Testsystem der Firma Boehringer Mannheim GmbH verwendet.

a) Pufferlösung pH 7,35

b) Fibrinogen-Reagenz
Das im Test-Kit enthaltene Fibrinogen-Reagenz wird mit 2 ml bidestilliertem Wasser gelöst und in der Originalflasche aufbewahrt. Die Haltbarkeit beträgt bei + 2 bis + 8° C 24 Stunden.

c) Kontrollplasma normal
Das lyophilisierte Kontrollplasma normal wird mit 0,5 ml H_2O dest. gelöst. Die Lösung muß am gleichen Tag verbraucht werden.

d) Kontrollplasma abnormal
Weitere Angaben siehe c)

Testdurchführung:
Immunglobulin wird 1 + 9 mit Pufferlösung verdünnt. 0,2 ml der Probe werden in eine Küvette des Coagulometers pipettiert und eine Minute bei 37° C inkubiert. Danach werden 0,2 ml Fibrinogenreagenz dazugegeben und die Stoppuhr des Gerätes gestartet. Der Zeitpunkt des Gerinnungseintritts wird vom Coagulometer selbständig bestimmt. Zur Umrechnung des Sekundenwertes in mg/dl Fibrinogen dient die der Pakkung beigegebene Tabelle. Die Qualitätskontrolle erfolgte mit Kontrollplasma normal und abnormal.

Immunologisches Testprinzip: siehe Tabelle 3

2.5. Antithrombin III

Testprinzip mittels chromogener Substrate (20, 21, 184):
Der Progressivinhibitor AT III wird durch Heparin in einen Sofortinhibitor umgewandelt (112, 171). Läßt man den AT III-Heparin-Komplex mit einer definierten Menge Thrombin im Überschuß reagieren, so wird ein entsprechender Teil des Thrombins irreversibel gehemmt (107, 134). Es verbleibt eine Restmenge Thrombin, die dem AT III-Gehalt der Probe umgekehrt proportional ist. Das nicht gehemmte

1. AT III + Heparin $\longrightarrow$ (AT III · Heparin)

2. (AT III · Heparin) + $\text{Thrombin}_{\text{Überschuß}} \longrightarrow$
(HT III · Heparin · Thrombin) + $\text{Thrombin}_{\text{Rest}}$

3. Tos-Gly-Pro-Arg-pNA $\xrightarrow[H_2O]{\text{Thrombin}}$ Tos-Gly-Pro-Arg-OH + pNA

Abb. 13: Testprinzip der AT III-Bestimmung mittels chromogener Substrate

Thrombin setzt aus dem chromogenen Substrat Chromozym TH Tos-Gly-Pro-Arg-pNA durch Proteolyse pNA frei. Aus der Extinktion bei 405 nm wird die AT III-Aktivität der Probe berechnet.

Reagenzien:
Zur Bestimmung der AT III-Aktivität wurde das Testsystem AT III-Farbtest der Firma Boehringer Mannheim GmbH verwendet.

a) Puffer:
Das im Test-Kit enthaltene Pufferkonzentrat wird mit neun Volumenteilen destilliertem Wasser verdünnt. Der Puffer ist bei + 4° C etwa einen Monat haltbar.

b) Thrombin:
Das lyophilisierte Thrombin wird mit 3 ml destilliertem Wasser gelöst. Der Gehalt der Thrombinlösung beträgt 0,5 U/ml. Die Lösung ist bei + 4° C etwa zwei Wochen haltbar.

c) Substrat:
Das ebenfalls im Test-Kit enthaltene lyophilisierte Substrat Chromozym TH wird mit 4 ml H_2O dest. gelöst. Die Lösung hat die Konzentration 1,9 mmol/l und kann, bei + 4° C aufbewahrt, einen Monat verwendet werden.

d) Essigsäure 20 %

e) Natriumchlorid 0,9 %

Testdurchführung:
Puffer- und Thrombinlösung werden im Verhältnis 1 : 20 gemischt. 100 µl des 1 : 50 verdünnten Ig-Präparates werden mit 2 ml des oben genannten Reagenzgemisches versetzt und

5 Minuten bei 30° C inkubiert. Anschließend werden 200 µl Substratlösung dazupipettiert, sofort gemischt und die Reaktion durch Zugabe von 1 ml 20 %iger Essigsäure nach genau 2 Minuten gestoppt. Die Extinktion wird im Photometer bei 405 nm gegen einen Leerwert gemessen, der aus 100 µl NaCl, 2 ml Reagenzgemisch, 200 µl Substratlösung und 1 ml 20 %iger Essigsäure besteht. Die Extinktionsdifferenz multipliziert mit 87 ergibt die AT III-Aktivität in IU/ml. Die Qualitätskontrolle erfolgte für jede Meßserie mit Preci Chrom I/II.

Immunologisches Testprinzip: siehe Tabelle 3

2.6. Plasminogen

Testprinzip mittels chromogener Substrate (56, 89):
Bei der Reaktion von Plasminogen und Streptokinase im Überschuß wird ein Komplex mit enzymatischer Aktivität gebildet. Der Plasminogen-Streptokinase-Komplex spaltet Paranitroanilin vom Substrat S-2251 (H-D-Val-Leu-Lys-pNA). Da Streptokinase im Überschuß eingesetzt wird, ist die ganze Plasminogenmenge aktiviert, sodaß die in einer bestimmten Zeit freigesetzte Menge pNA proportional zur vorhandenen Menge Plasminogen ist. Der freigesetzte Farbstoff wird photometrisch bei 405 nm bestimmt, und gegen eine Eichkurve eines Vergleichskollektives gerinnungsgesunder Spender abgelesen.

1. Plasminogen + Streptokinase $\longrightarrow$ PLG-SK

2. H-D-Val-Leu-Lys-pNA+$H_2O \xrightarrow{\text{PLG-SK}}$ H-D-Val-Leu-Lys-OH+pNA

Abb. 14: Testprinzip der Plasminogenbestimmung mittels chromogener Substrate

Reagenzien:
Zur Bestimmung von Plasminogen wurden Reagenzien der Kabi Vitrum AB, Stockholm, verwendet.

a) Puffer:
6,1 g (50 mmol/l) Tris und 0,7 g (12 mmol/l) NaCl werden in 800 ml destilliertem Wasser gelöst. Mit etwa 44 ml 1 molarer HCl wird der pH-Wert bei 25° C auf 7,4 eingestellt. Anschließend wird bis 1000 ml mit H_2O dest. aufgefüllt. Nicht kontaminierter Puffer bleibt bei + 2 bis + 8° C zwei Monate stabil.

b) Substrat:
25 mg Substrat S-2251 (H-D-Val-Leu-Lys-pNA · 2HCl) werden in 15 ml H_2O dest. gelöst. Die Lösung ist, bei + 2 bis + 8° C aufbewahrt, sechs Monate stabil.

c) Aktivator:
Streptokinase wird mit destilliertem Wasser auf 10 000 IU/ml verdünnt, und ist, im Kühlschrank aufbewahrt, etwa eine Woche verwendbar.

d) Substrat-Puffer-Lösung
Zwei Volumeneinheiten Substrat S-2251 werden mit fünf Volumeneinheiten Puffer gemischt. Die Lösung ist drei Tage stabil.

e) Essigsäure 50 %
Testdurchführung:
200 µl des Ig-Präparates werden 2 bis 6 Minuten lang bei 37° C erwärmt, danach 100 µl Streptokinase dazugegeben und 10 Minuten bei 37° C im Wasserbad belassen. Anschließend werden 700 µl Substrat-Puffer-Gemisch dazupipettiert. Nach genau 3 Minuten wird die Reaktion mit 100 µl 50 %iger

Essigsäure gestoppt. Die Extinktion wird bei 405 nm im Photometer gegen einen Leerwert, bestehend aus 200 µl der Probe, 100 µl 50 %ige Essigsäure und 800 µl H_2O dest., gemessen. Die Auswertung erfolgt mittels einer Eichkurve über den HP 85. Die Qualitätskontrolle erfolgte für jede Meßserie mit Standard-Human-Plasma.

Immunologisches Testprinzip: siehe Tabelle 3

2.7. Präalbumin

Immunologisches Testprinzip: siehe Tabelle 3

2.8. Albumin

Bei den anderen Proteinbestimmungen wirkt Albumin als Schutzprotein gegen die Adsorption an der Gefäßwand. Wird Albumin selbst gemessen, ist kein anderer Schutz gegen die Gefäßadsorption vorhanden. Dieser Effekt läßt sich durch Zusatz von Tween 20 zur isotonischen NaCl-Lösung beheben (11).

Immunologisches Testprinzip: siehe Tabelle 3

2.9. IgG

Immunologisches Testprinzip: siehe Tabelle 3

Zur Erklärung der folgenden Abbildungen sei ein Beispiel vorangestellt. Die Werte der Charge 1 wurden selbst erarbeitet, diejenigen der Charge 2 wurden mir von den Doktorandinnen Frau Karaus und Frau Hofmann (94) überlassen. Ihnen möchte ich dafür danken.

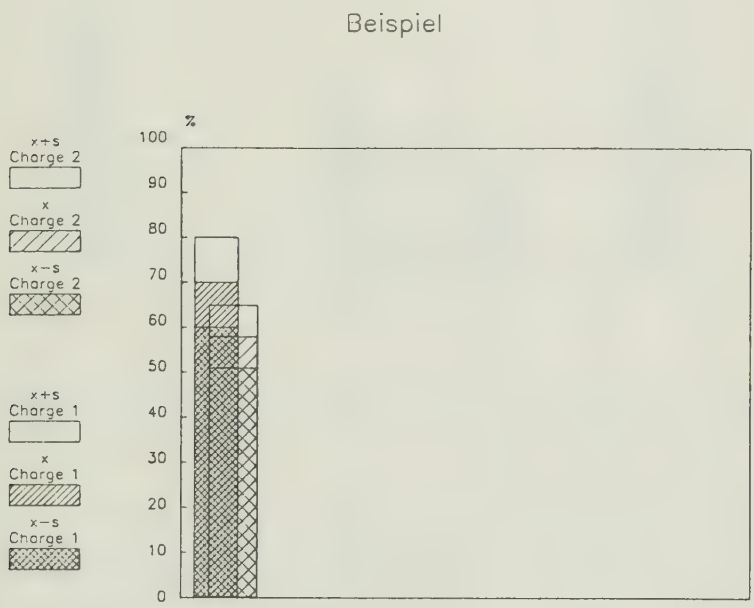

Abb. 15: Beispiel

1. Kallikrein-Like-Activity

Die kallikreinähnlichen Aktivitäten in den Immunglobulinpräparationen wurde mit Hilfe eines chromogenen Substrats (52, 56, 88) ermittelt (s. Material und Methoden). Die bei 37° C Inkubationstemperatur erhaltenen Extinktionswerte wurden mit einem Umrechnungsfaktor (88) in U/l umgerechnet (Tab. 4, Abb. 16 und 17). Die Ergebnisse von Charge 2 wurden mir von den Doktorandinnen Frau Karaus und Frau Hofmann (94) überlassen.

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1		Charge 2	
		$\bar{x}$ (U/l)	s (U/l)	$\bar{x}$ (U/l)	s (U/l)
a	10	148,0	8,2	219,2	13,7
b	10	4,1	0,3	4,4	1,7
c	10	10,0	0,4	30,8	2,2
d	10	97,3	2,0	94,3	5,6
e	10	39,2	0,6	57,8	8,6
f	10	64,9	1,4	21,7	2,6
g	10	2,0	0,2	4,8	1,0
h	10	113,4	1,4	113,7	4,7

Tab. 4: Kallikrein-Like-Activity

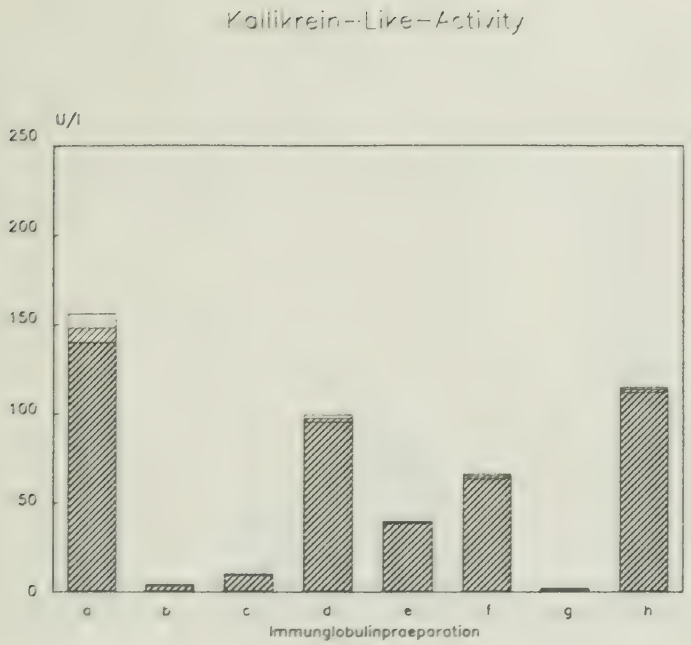

Abb. 16: Kallikrein-Like-Activity von Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller

Die Werte der Kallikrein-Like-Activity von Charge 1 liegen zwischen 2,0 ± 0,2 U/l bei Hersteller g und 148,0 ± 8,2 U/l bei Hersteller a. Die Meßwerte der acht verschieden Präparate unterscheiden sich signifikant.

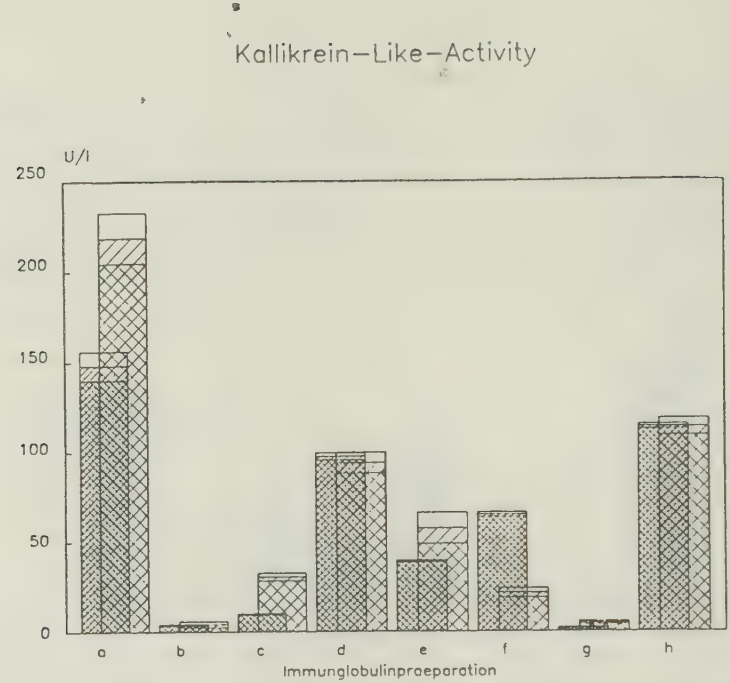

Abb. 17: Kallikrein-Like-Activity von Immunglobulinpräparationen zwei verschiedener Chargen von acht Herstellern

Beim Vergleich der zwei unterschiedlichen Chargen zeigten die Präparate b und d nur einen geringen Unterschied an Kallikrein-Like-Activity, bei allen übrigen war der Aktivitätsunterschied signifikant.

2. Präkallikrein

Die Präkallikrein-Aktivität in den Immunglobulinpräparationen wurde mit Hilfe eines chromogenen Substrats (56, 90) ermittelt (s. Material und Methoden). Die Meßwerte werden in Tab. 5 und in den Abb. 18 und 19 dargestellt. Die Ergebnisse von Charge 2 wurden mir von den Doktorandinnen Frau Karaus und Frau Hofmann (94) überlassen.

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1		Charge 2	
		$\bar{x}$ (%)	s (%)	$\bar{x}$ (%)	s (%)
a	10	12,1	1,6	28,8	6,8
b	10	6,3	2,4	11,4	4,0
c	10	19,8	1,0	37,4	7,3
d	10	21,4	6,8	30,1	3,1
e	10	2,0	1,3	26,0	10,7
f	10	1,9	1,8	32,3	12,0
g	10	9,2	2,6	11,3	2,2
h	10	11,1	0,9	36,3	1,1

Tab. 5: Präkallikrein-Aktivität

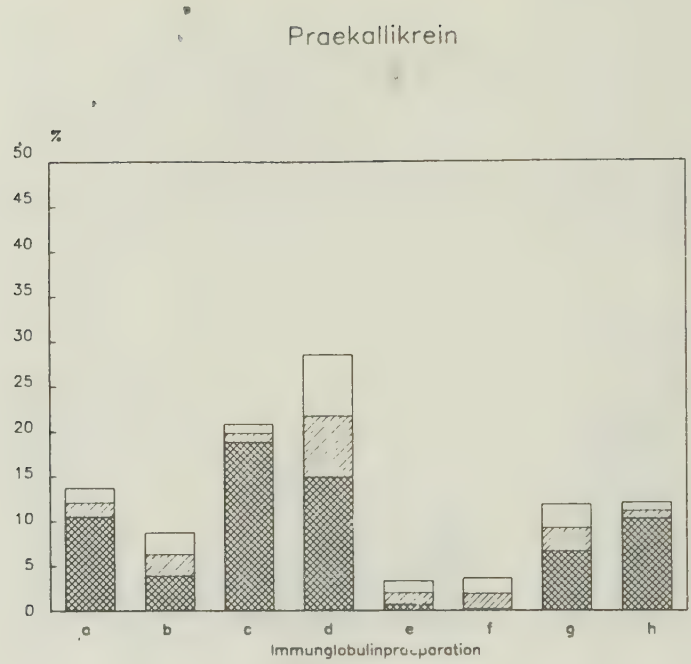

Abb. 18: Präkallikrein-Aktivität von Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller

Die freisetzbaren Kallikrein-Aktivitäten liegen zwischen 1,9 ± 1,8 % in Infusionslösung f und 21,7 ± 6,8 % in Infusionslösung d bei Charge 1. Außer zwischen den Präparaten a und h, c und d, e und f, g und h sind die Unterschiede an Gehalt an Präkallikrein signifikant.

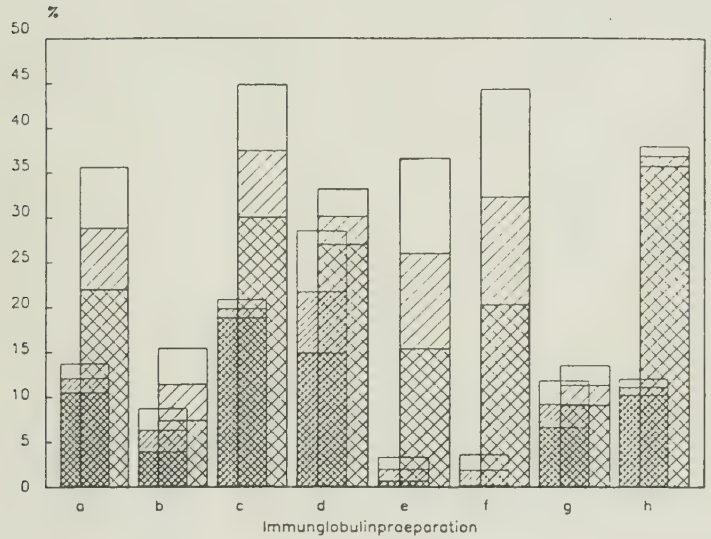

Abb. 19: Präkallikrein-Aktivität von Immunglobulinpräparationen zwei verschiedener Chargen von acht Herstellern

Die Mittelwerte an Präkallikrein der acht verschiedenen Präparate liegen bei der zweiten Charge signifikant höher als bei Charge 1.

3. Kallikrein-Inhibitor-Activity

Die Kallikrein-Inhibitor-Aktivität wurde mittels eines chromogenen Substrats (87) ermittelt (s. Material und Methoden). Die Ergebnisse von Charge 2 wurden mir von den Doktorandinnen Frau Karaus und Frau Hofmann (94) überlassen. Die Meßwerte werden in Tab. 6 und in den Abb. 20 und 21 dargestellt.

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1		Charge 2	
		$\bar{x}$ (U/l)	s (U/l)	$\bar{x}$ (U/l)	s (U/l)
a	10	0	0	0	0
b	10	0	0	0	0
c	10	7,24	1,50	9,25	2,43
d	10	0,84	0,76	6,16	3,79
e	10	3,87	1,78	0,2	0,36
f	10	0	0	7,39	4,73
g	10	0	0	9,30	4,35
h	10	2,31	0,98	0	0

Tab. 6: Kallikrein-Inhibitor-Activity

Anhand immunologischer Tests mit einem Laser-Nephelometer (s. Material und Methoden) wurde der Gehalt der Präparationen an C1-Inhibitor bestimmt. Die Meßwerte werden in Tab. 7 und in den Abb. 22 und 23 dargestellt. Die Ergebnisse von Charge 2 wurden mir von den Doktorandinnen Frau Karaus und Frau Hofmann (94) überlassan.

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1		Charge 2	
		$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)	$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)
a	10	0,22	0	0,22	0
b	10	0	0	0,22	0
c	10	0,22	0	0,22	0
d	10	0	0	0,22	0
e	10	0,22	0	0,22	0
f	10	0	0	0,22	0
g	10	0,22	0	0,22	0
h	10	0,22	0	0	0

Tab. 7: C1-Inhibitor

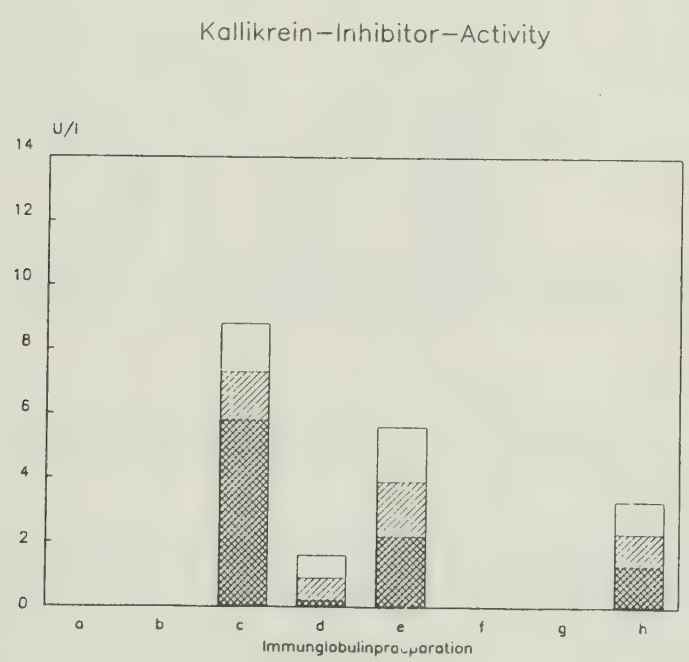

Abb. 20: Kallikrein-Inhibitor-Activity von Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller

Die Werte der Kallikrein-Inhibitor-Activity liegen zwischen 0 U/l bei den Herstellern a, b, f und h und 7,24 ± 1,5 U/l bei Hersteller c. Die Meßwerte der acht verschiedenen Präparate unterscheiden sich signifikant.

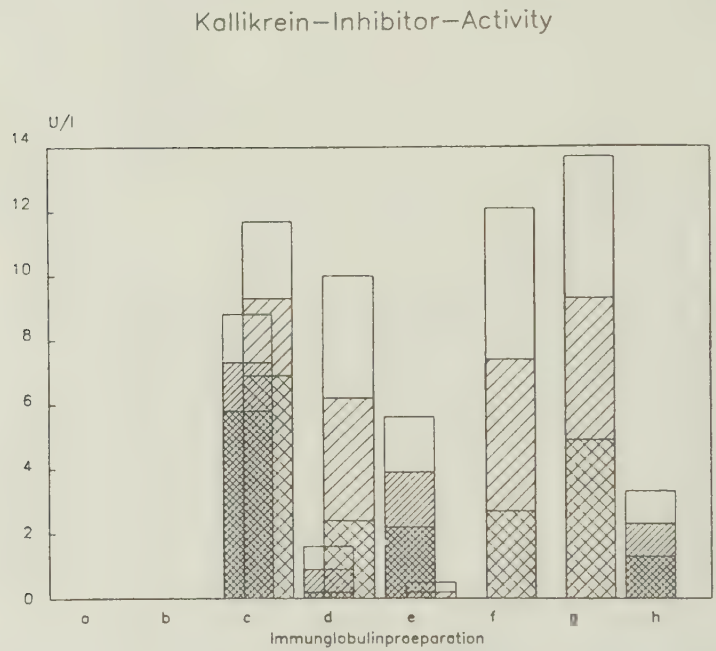

Abb. 21: Kallikrein-Inhibitor-Activity von Immunglobulinpräparationen zwei verschiedener Chargen von acht Herstellern

Der Vergleich der beiden Chargen ergibt bei jedem Hersteller einen signifikanten Unterschied.

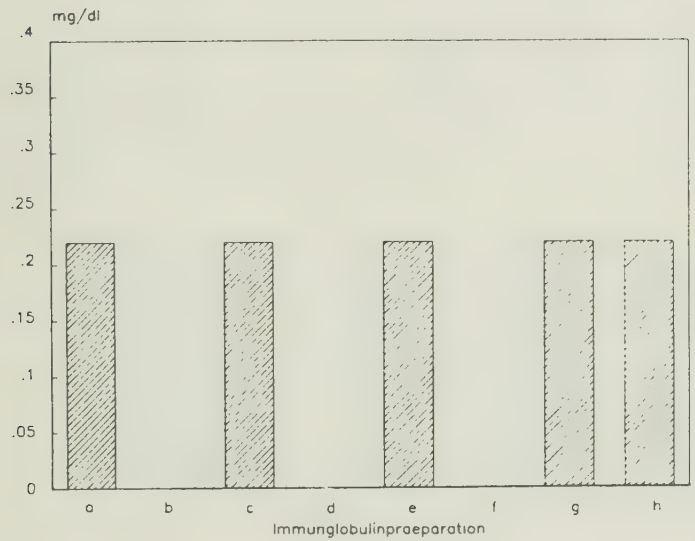

Abb. 22: Gehalt an C1-Inhibitor in Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller

Der Gehalt an C1-Inhibitor liegt zwischen 0 mg/dl bei den Herstellern b, d und f und 0,22 $\pm$ 0 mg/dl bei den Herstellern a, c, e, g und h.

Beim Vergleich der beiden verschiedenen Chargen ergaben sich bei Hersteller b, d, f und h signifikante Unterschiede.

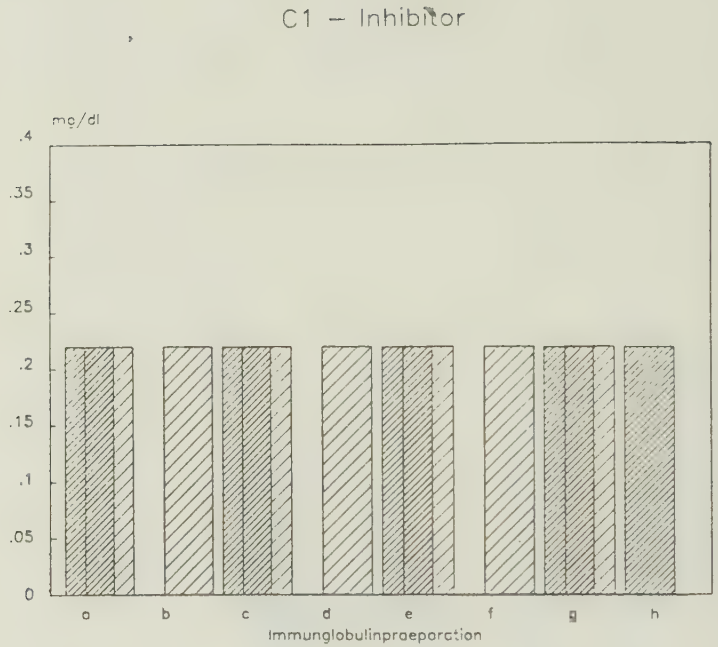

Abb. 23: Gehalt an C1-Inhibitor in Immunglobulinpräparationen zwei verschiedener Chargen von acht Herstellern

4. Fibrinogen

Zur quantitativen Fibrinogenbestimmung wurde ein kommerziell erhältliches Fibrinogen-Testsystem (19, 25, 125) verwendet (s. Material und Methoden). Zur Umrechnung des Sekundenwertes in mg/dl Fibrinogen dient die der Packung beigegebene Tabelle.

Mit diesem Testprinzip konnte bei keinem der Präparate eine Verunreinigung mit Fibrinogen nachgewiesen werden. Es erfolgte keine Gerinnung der Plasmen im Coagulometer.

Mit der immunologischen Testmethode mit Hilfe der Streulichtmessung im Laser-Nephelometer (s. Material und Methoden) konnte vereinzelt Fibrinogen nachgewiesen werden. Die Ergebnisse von Charge 2 wurden mir von den Doktorandinnen Frau Karaus und Frau Hofmann (94) überlassen. Die Meßwerte werden in Tab. 8 und in den Abb. 24 und 25 dargestellt.

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1		Charge 2	
		$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)	$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)
a	10	0	0	0	0
b	10	0,88	0	0,62	0,13
c	10	0	0	0	0
d	10	0	0	0	0
e	10	0	0	0	0
f	10	0	0	0	0
g	10	0	0	0	0
h	10	1,71	0,02	0,88	0

Tab. 8: Fibrinogen

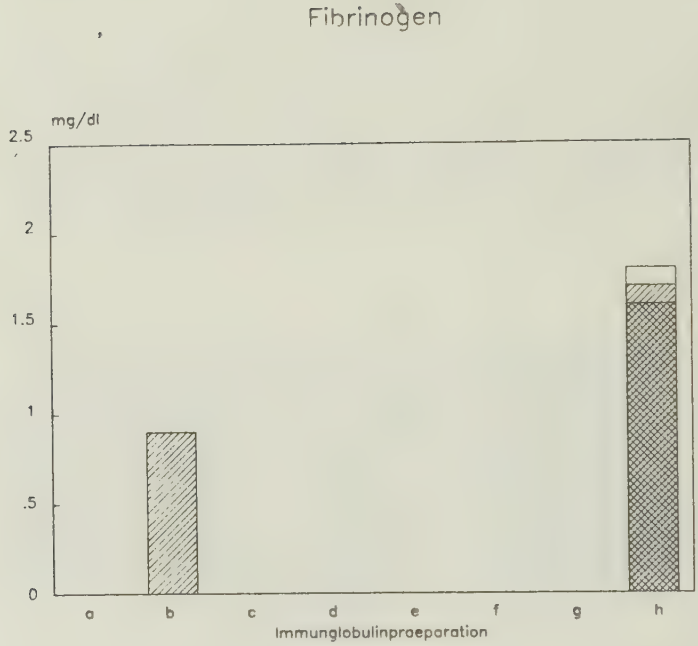

Abb. 24: Gehalt an Fibrinogen in Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller

Nur die Produkte zweier Hersteller enthalten Fibrinogen, nämlich Produkt b mit 0,88 ± 0 mg/dl und Produkt h mit 1,71 ± 0,02 mg/dl. Der Unterschied ist signifikant.

Auch bei der anderen Charge war lediglich bei Produkt b und h Fibrinogen enthalten, jedoch in signifikant unterschiedlicher Konzentration zu Charge 1.

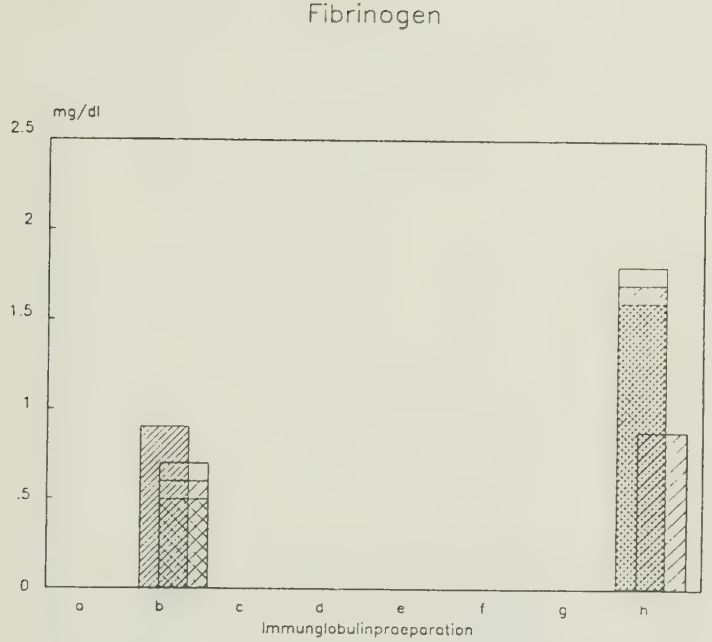

Abb. 25: Gehalt an Fibrinogen in Immunglobulinpräparationen zwei verschiedener Chargen von acht Herstellern

5. Antithrombin III

Die Antithrombinaktivität wurde durch einen Test mit chromogenen Substraten (20, 21, 184) bestimmt (s. Material und Methoden). Die Ergebnisse von Charge 2 wurden mir von den Doktorandinnen Frau Karaus und Frau Hofmann (94) überlassen. Die Meßwerte werden in Tab. 9 und in den Abb. 26 und 27 dargestellt.

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1		Charge 2	
		$\bar{x}$ (U/ml)	s (U/ml)	$\bar{x}$ (U/ml)	s (U/ml)
a	10	0,21	0,24	0,63	0,48
b	10	1,36	0,33	0,38	0,37
c	10	0,24	0,34	0,74	0,61
d	10	0,23	0,35	0,44	0,31
e	10	0,31	0,29	1,01	0,72
f	10	0,84	0,51	0,53	0,42
g	10	0,30	0,27	0,29	0,24
h	10	0,45	0,39	0,41	0,17

Tab. 9: Antithrombin III-Aktivität

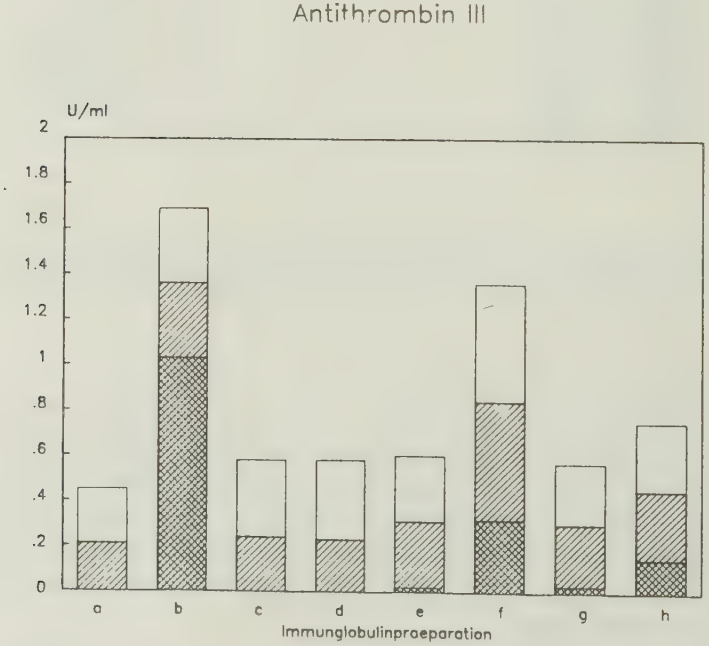

Abb. 26: Antithrombin III-Aktivität von Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller

Die Werte der AT III-Aktivität liegen zwischen 0,21 ± 0,24 U/ml bei Hersteller a und 1,36 ± 0,33 U/ml bei Hersteller b. Die Produkte der Hersteller b und f zeigen sowohl untereinander als auch gegenüber allen anderen Produkten signifikant verschiedene Meßwerte.

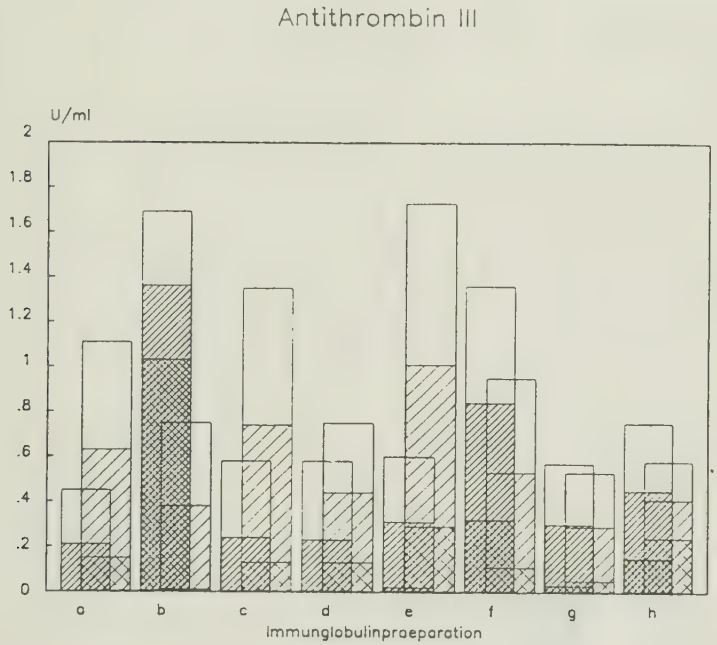

Abb. 27: AT III-Aktivität von Immunglobulinpräparationen zwei verschiedener Chargen von acht Herstellern

Beim Vergleich der zwei unterschiedlichen Chargen zeigen die Produkte a bis f signifikante Unterschiede. Bei den Produkten g und h waren die Meßwerte nahezu identisch.

Das immunologische Testverfahren (11, 154) ergab folgende Ergebnisse (Tab. 10, Abb. 28 und 29):

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1		Charge 2	
		$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)	$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)
a	10	1,04	0,01	1,27	0,02
b	10	2,83	0,03	0,44	0
c	10	0	0	0	0
d	10	0,66	0	0	0
e	10	0	0	0	0
f	10	0	0	0	0
g	10	0	0	0	0
h	10	0	0	0	0

Tab. 10: Antithrombin III-Konzentration

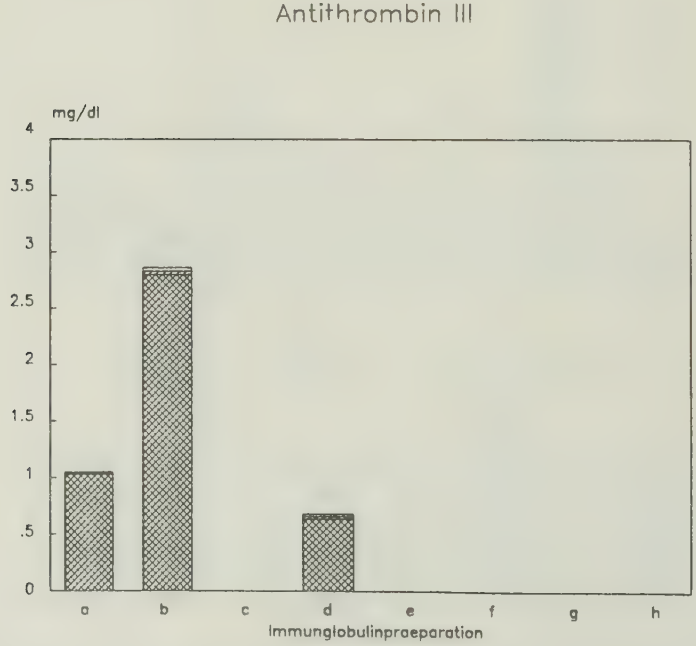

Abb. 28: AT III-Konzentration in Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller

Die Konzentration an AT III liegt zwischen 0 mg/dl bei den Herstellern c, e, f, g und h und 2,83 ± 0,03 mg/dl bei Hersteller b. Die Produkte unterscheiden sich signifikant.

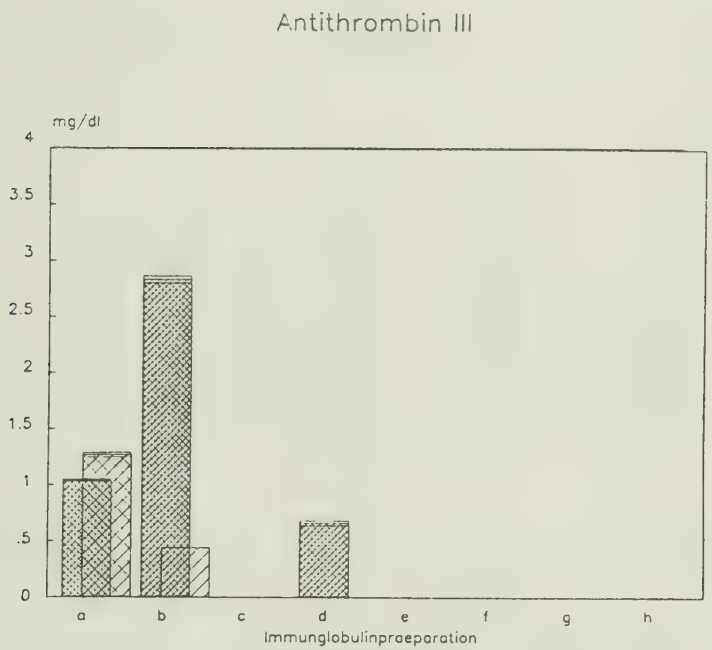

Abb. 29: AT III-Konzentration in Immunglobulinpräparationen zwei verschiedener Chargen von acht Herstellern

Die Produkte der Hersteller a, b und d zeigen bei zwei Chargen signifikante Unterschiede. Bei den Produkten c, e, f, g und h konnte bei beiden Chargen kein Gehalt an AT III festgestellt werden.

6. Plasminogen

Die Aktivität des Plasminogens läßt sich durch chromogene Substrate (56, 89) bestimmen (s. Material und Methoden). Die Aktivität wird in % der Normalaktivität ausgedrückt. Die Ergebnisse von Charge 2 wurden mir von den Doktorandinnen Frau Karaus und Frau Hofmann (94) überlassen. Die Meßwerte werden in Tab. 11 und in den Abb. 30 und 31 dargestellt.

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1		Charge 2	
		$\bar{x}$ (%)	s (%)	$\bar{x}$ (%)	s (%)
a	10	0,45	0,09	0,58	0,07
b	10	0,48	0,03	0,27	0,07
c	10	0,39	0,01	0,52	0,06
d	10	0,53	0,02	0,67	0,05
e	10	0	0	0,70	0,19
f	10	0,51	0,04	0,51	0,07
g	10	0,37	0,04	0,39	0,05
h	10	0,23	0,02	0,47	0,03

Tab. 11: Plasminogen-Aktivität

Die Meßwerte der Plasminogen-Aktivität liegen zwischen 0 % bei Hersteller e und 0,53 $\pm$ 0,02 % bei Hersteller d. Die Präparationen zeigen signifikante Unterschiede an Plasminogen-Aktivität mit Ausnahme von Präparation a mit b und c, c mit g und f mit b und d.

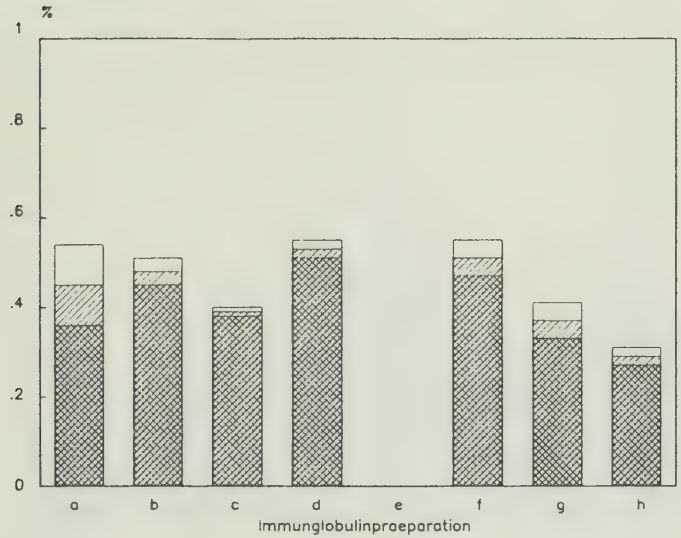

Abb. 30: Plasminogen-Aktivität von Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller

Die beiden untersuchten Chargen unterscheiden sich bei den Herstellern a, b, c, d, e und h signifikant. Bei den Herstellern f und g liegen die gemessenen Werte dicht beieinander.

Die quantitative Plasminogenbestimmung wurde mit einem immunologischen Testverfahren (11, 154) durchgeführt (s. Material und Methoden). Mit diesem Testprinzip konnte bei keiner der Präparationen eine Verunreinigung an Plasminogen festgestellt werden. Es erfolgte keine im Laser-Nephelometer meßbare Bildung von Antigen-Antikörperkomplexen.

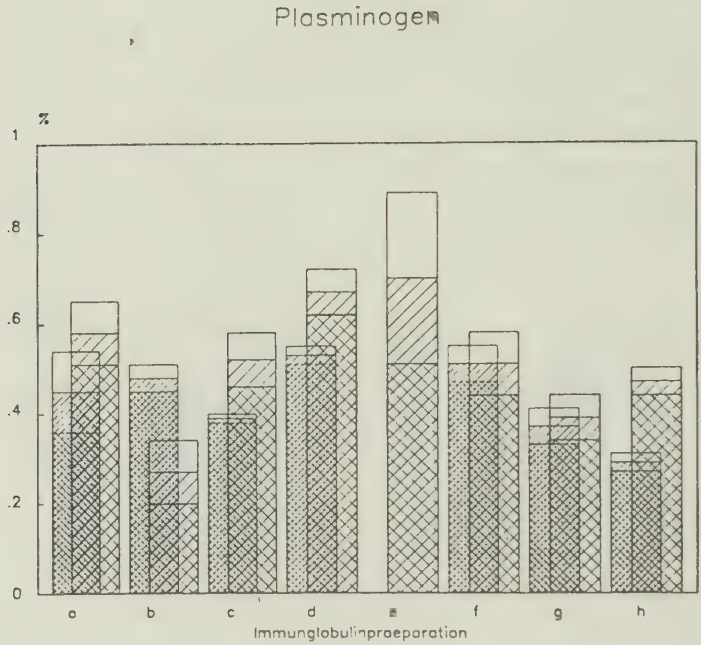

Abb. 31: Plasminogen-Aktivität von Immunglobulinpräparationen zwei verschiedener Chargen von acht Herstellern

7. Präalbumin

Die Konzentration von Präalbumin in Gammaglobulinpräparationen wurde mit Hilfe eines immunologischen Testverfahrens (11, 154) bestimmt (s. Material und Methoden). Die Ergebnisse von Charge 2 wurden mir von den Doktorandinnen Frau Karaus und Frau Hofmann (94) überlassen. Die Meßwerte werden in Tab. 12 und in den Abb. 32 und 33 dargestellt.

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1		Charge 2	
		$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)	$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)
a	10	12,49	0,19	13,98	0,39
b-h	10	0	0	0	0

Tab. 12: Präalbumin

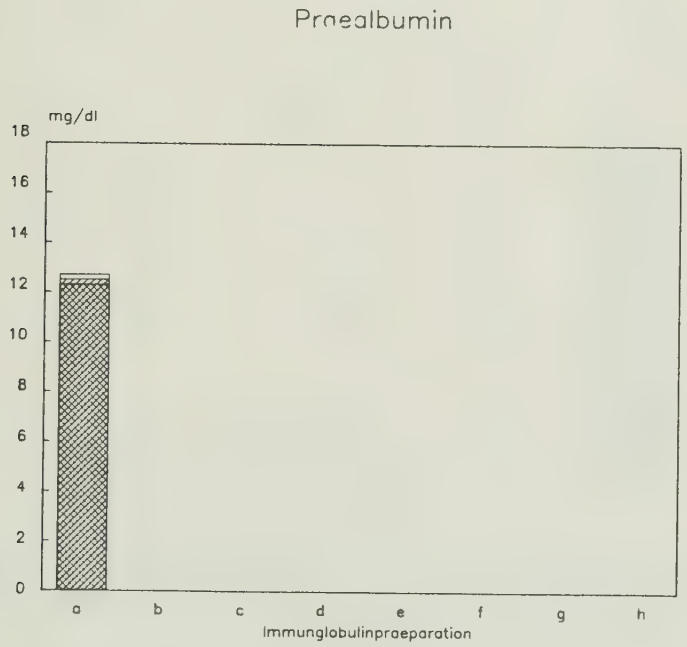

Abb. 32: Präalbumin-Konzentration von Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller

Lediglich bei Hersteller a ist Präalbumin in einer Konzentration von 12,49 ± 0,19 mg/dl enthalten. Bei den Produkten der anderen Hersteller ist das Serumprotein nicht nachweisbar.

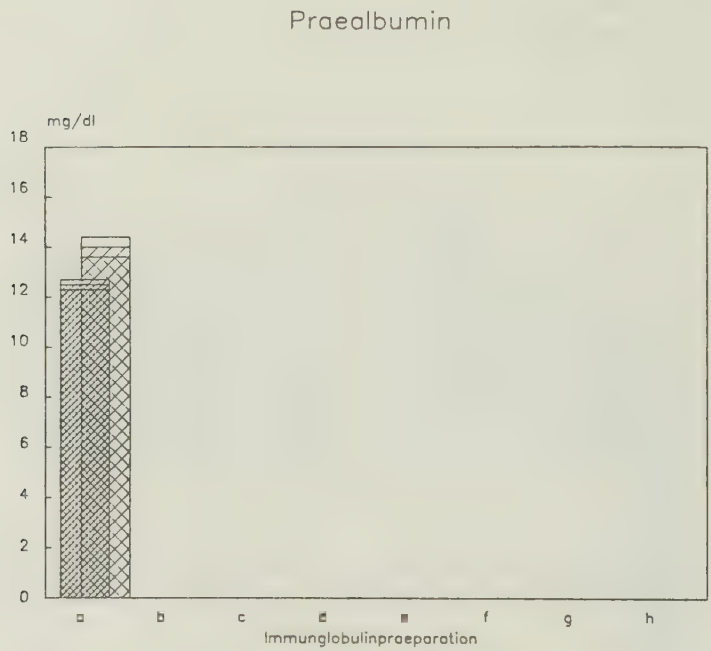

Abb. 33: Präalbuminkonzentration von Immunglobulinpräparationen zwei verschiedener Chargen von acht Herstellern

Beim Vergleich der zwei unterschiedlichen Chargen zeigen die beiden Präparate a einen signifikanten Unterschied. Die Präparate b - h enthalten auch in der zweiten Charge keine nachweisbaren Mengen an Präalbumin.

8. Albumin

Die Konzentration von Albumin in 7S-Präparationen wurde durch Antigen-Antikörper-Reaktion (11, 154) nachgewiesen (s. Material und Methoden). Charge 2 wurde nicht auf Albumin untersucht. Die Meßwerte werden in Tab. 13 und in Abb. 34 dargestellt.

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1	
		$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)
a	10	5352,30	49,10
b	10	0	0
c	10	0,69	0,01
d	10	0	0
e	10	1,53	0
f	10	3,05	0,02
g	10	1,49	0,01
h	10	0	0

Tab. 13: Albumin-Konzentration

Die Werte der Albumin-Konzentration liegen zwischen 0 mg/dl bei den Herstellern b, d und h und 5352,30 $\pm$ 49,10 mg/dl bei Hersteller a, wobei dieser sein Präparat seinen Angaben zufolge mit 5000 mg/dl Albumin stabilisiert.

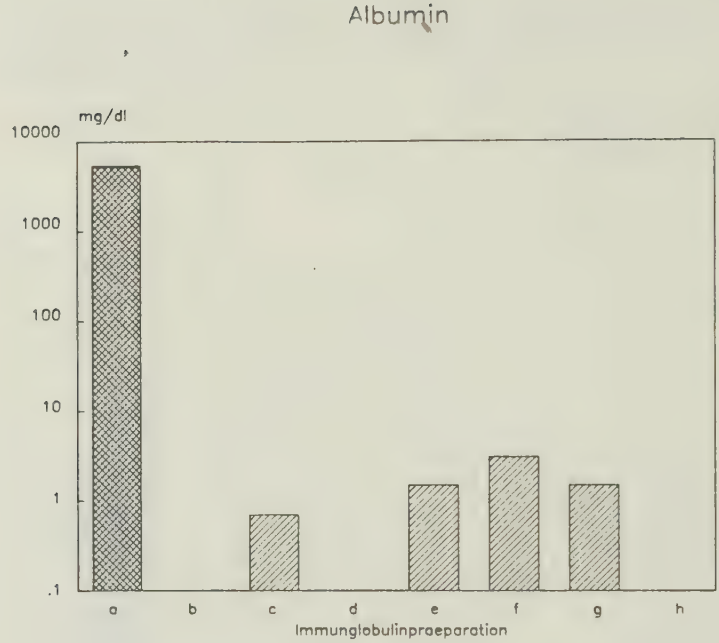

Abb. 34: Albumin-Konzentration von Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller

9. IgG

Auch die Konzentration von IgG wurde mit Hilfe des immunologischen Testverfahrens (11, 154) bestimmt (s. Material und Methoden). Der Sollwert liegt bei jedem Präparat bei 5000 mg/dl. Die Ergebnisse von Charge 2 wurden mir von den Doktorandinnen Frau Karaus und Frau Hofmann (94) überlassen. Die Meßwerte werden in Tab. 14 und in den Abb. 35 und 36 dargestellt.

Immunglobulinpräparationen

Hersteller	n	Charge 1		Charge 2	
		$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)	$\bar{x}$(mg/dl)	s(mg/dl)
a	10	6222	66,7	4560	225
b	10	4747	54,8	4210	373
c	10	5644	57,4	5276	772
d	10	5550	81,7	6190	948
e	10	5400	46,6	6231	1071
f	10	6122	41,7	5723	357
g	10	5038	45,9	4926	223
h	10	5482	67,8	5175	604

Tab. 14: IgG-Konzentration

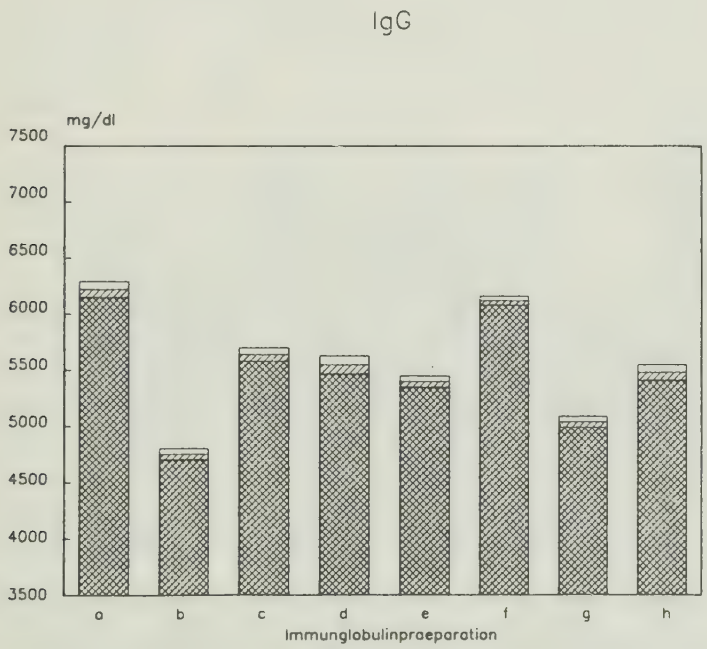

Abb. 35: IgG-Konzentration von Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge von acht verschiedenen Herstellern

Die Konzentration des Wirkstoffes IgG zeigt von Hersteller zu Hersteller signifikante Unterschiede. Der niedrigste Wert liegt bei 4747 ± 54,8 mg/dl in Produkt b, der höchste bei 6222 ± 66,7 mg/dl in Produkt a.

Produkt b liegt weiterhin signifikant unter dem vom Hersteller angegebenen Sollwert, die anderen Produkte liegen signifikant höher als der angegebene Sollwert von 5000 mg/dl.

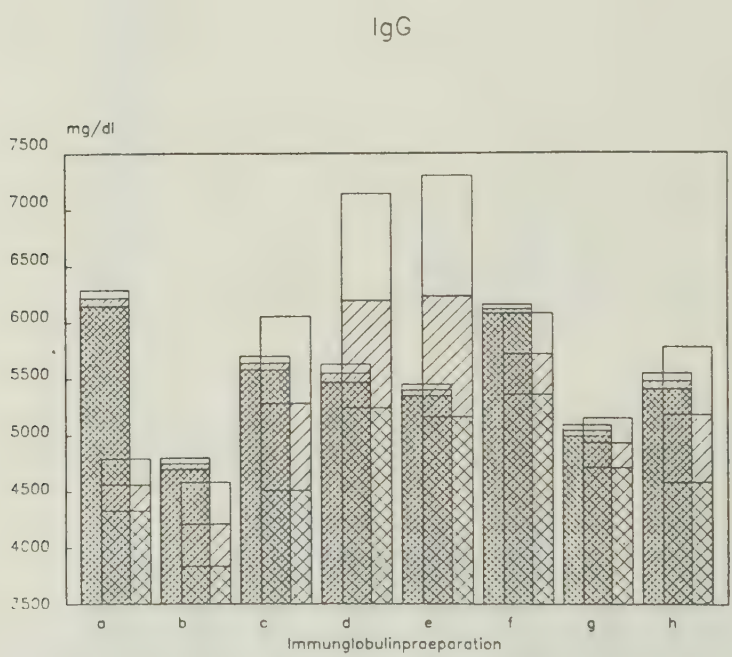

Abb. 36: IgG-Konzentration von Immunglobulinpräparationen zwei verschiedener Chargen von acht Herstellern

Die beiden verschieden Chargen weisen bezüglich der IgG-Konzentration bei allen Herstellern signifikante Unterschiede auf.

VI. Diskussion

1. Kallikrein-Like-Activity

Die Werte der Kallikrein-Like-Activity der Immunglobulinpräparationen liegen bei Hersteller b mit 4,1 ± 0,3 U/l und bei Hersteller g mit 2,0 ± 0,2 U/l deutlich unter den Werten des Kontroll-Humanplasmas, das mit 38,3 ± 3,5 U/l gemessen wurde. Die anderen Präparate liegen zum Teil erheblich darüber. Das als einziges mit Albumin stabilisierte Produkt weist die höchste Kallikrein-Aktivität mit 148,0 ± 8,2 U/l auf.

Bei der zweiten untersuchten Charge weisen zwar nur drei Hersteller keine signifikanten Unterschiede auf, doch liegt auch bei den anderen Herstellern die Kallikrein-Aktivität der beiden Chargen in der gleichen Größenordnung.

Die Ursache für die Unterschiede von Firma zu Firma könnten in den verschiedenen Herstellungs- und Stabilisierungsverfahren begründet liegen.

Die vielfältige Wirkung des Kallikreins und dessen zum Teil hohe Konzentration in einzelnen Produkten, können bei einer Infusionstherapie mit Gammaglobulinen zu unbeabsichtigten Begleiterscheinungen führen. Auf Grund der blutdrucksenckenden Wirkung der Kallikreine (113, 160) erscheint es nicht sinnvoll, Präparationen mit hoher Kallikrein-Aktivität einem Patienten mit Hypotonie zu infundieren.

Kallikrein besitzt eine wesentliche Funktion im Bereich des Gerinnungssystems. Es katalysiert die Oberflächen-

aktivierung des Faktor XII und umgekehrt wird auch Kallikrein durch den Hageman-Faktor aktiviert. So erfolgt die Induktion des Intrinsic-Systems der Gerinnung (24, 26). Bei Patienten mit Erkrankungen des Gerinnungs- und Fibrinolysesystems ebenso wie bei temporärer Störung dieser Systeme sollte eine Gabe von Kallikreinen vermieden werden.

Verschiedene Autoren (67, 124, 183) geben Hinweise auf den Zusammenhang zum Kohlehydratstoffwechsel, insbesondere auf die Wechselwirkung des Insulins mit dem Kallikrein-Kininsystem. Diese Stoffwechselbeeinflussung sollte bei der Behandlung von Patienten, bei denen zusätzlich ein Diabetes mellitus vorliegt, berücksichtigt werden.

Kallikrein vermag die erste Komplementkomponente aus ihrer inaktiven Vorstufe freizusetzen (34). Die durch die Komplementaktivierung freigesetzten Entzündungsmediatoren (156) führen über eine Histaminfreisetzung aus Mastzellen zu einer Gefäßreaktion. Geursen und andere Autoren (63, 68, 181) weisen unter anderem auf die Zusammenhänge von spontaner Komplementaktivierung und anaphylaktoider Reaktion bei Gabe von Ig-Präparationen hin.

Um die Gefahr von solchen Unverträglichkeitsreaktionen, die mit flushartigen Rötungen des Gesichts, Angstgefühl, Dyspnoe, Fieber und Kreislaufkollaps einhergehen können (50), sollte die ungewollte Gabe von Kallikrein mit der IgG-Infusion vermieden werden.

2. Präkallikrein

Die Präkallikreinwerte der Infusionslösungen liegen mit dem niedrigsten Wert von 1,9 ± 1,8 % der Lösung f und dem höchsten Wert von 21,7 ± 6,8 % der Lösung d weit unterhalb der Normalaktivität, die als 100 % bezeichnet wird. Die übernommenen Werte der zweiten Charge sind signifikant höher als die Werte der ersten Charge, liegen aber ebenfalls deutlich unter 100 %.

Durch intravasale Aktivierung des Präkallikreins zu Kallikrein kann es zu den oben genannten Reaktionen kommen. Wegen der geringen Mengen und der erst notwendigen Aktivierung ist vermutlich mit einer weit geringeren Wirkung zu rechnen, als bei direkter Gabe von Kallikrein.

Bei verschiedenen Krankheitsbildern zeigen sich charakteristische Änderungen des Plasma-Präkallikreinspiegels (24): Erhöhte Werte finden sich bei unkomplizierter Schwangerschaft, Diabetes mellitus und bei essentieller Hypertonie. Erniedrigte Werte sind bei schwerer Lebererkrankung, fortgeschrittener Niereninsuffizienz mit und ohne Hypertonie, sowie bei schweren entzündlichen Krankheitsbildern, Verbrauchskoagulopathien und Tumorleiden beobachtet werden.

In allen diesen Fällen bedeutet eine intravenöse Gabe von einer unbekannten Menge Präkallikrein einen Eingriff in die aus dem Gleichgewicht geratenen Stoffwechselvorgänge, dessen Folgen nicht genau kalkulierbar sind.

3. Kallikrein-Inhibitor-Activity

Die Kallikrein-Inhibitor-Activity wurde mit Hilfe chromogener Substrate gemessen, die Konzentration des C1-Esterase-Inhibitors dagegen mit dem Laser-Nephelometer. Der C1-Esterase-Inhibitor bewirkt den Hauptteil der Kallikreinhemmung (87). Der Vergleich beider Werte sollte Aufschluß darüber geben, ob eine eventuell vorliegende Konzentration an C1-Inhibitor vollständig oder nur zum Teil aktiv ist, und ob eine höhere Aktivität besteht, als diejenige, welche auf Grund der Konzentrationsmessung vorhanden sein dürfte. In diesem Fall wären ausser dem C1-Inhibitor noch andere Substanzen an der Kallikrein-Inhibitor-Activity beteiligt.

Die Meßergebnisse liegen sowohl bei der Aktivitäts- als auch bei der Konzentrationsbestimmung an der unteren Grenze der Meßbereiche, was die Präzision der Ergebnisse und somit ihre Aussagekraft einschränkt.

Es läßt sich feststellen, daß nur geringste Spuren der Verunreinigung bei allen Herstellern vorhanden sind. Bei Berücksichtigung der Verdünnung, welche die Infusionslösung im Körper erfährt, ist eine klinische Wirkung kaum zu erwarten.

4. Fibrinogen

Zur quantitativen Fibrinogenbestimmung wurde das Clauss'-sche Testprinzip (25) und ein immunologisches Testprinzip (11) verwendet. Beim ersten konnten die Proben nicht zur Gerinnung gebracht werden. Das zweite Verfahren konnte bei Hersteller b und h geringe Mengen, 0,88 ± 0 mg/dl und 1,71 ± 0,02 mg/dl nachweisen.

In Anbetracht der großen Schwankungsbreite des im Normalserum enthaltenen Fibrinogens von 200 bis 450 mg/dl (11) und des Verdünnungseffektes bei Infusion der Immunglobulinpräparationen, lassen die sehr geringen nachgewiesenen Mengen keine klinische Relevanz erwarten.

5. Antithrombin III

In der vorliegenden Untersuchung wird in den Immunglobulinpräparationen eine Antithrombin III-Aktivität festgestellt, die zwischen 1 und 5 % der normalerweise im Blut vorhandenen Aktivität liegt.

Bei der Konzentrationsmessung lagen nur drei der insgesamt acht Präparationen innerhalb des Meßbereiches. Es wurden ebenfalls nur geringe Mengen gemessen, wobei Präparation b mit 2,83 $\pm$ 0,03 mg/dl den höchsten Wert aufweist.

Sinkt die Plasmakonzentration von AT III auf einen Wert unter 70 bis 80 % der Norm, kommt es bereits zu einer klinisch bedeutsamen Verschiebung des hämostatischen Gleichgewichts in Richtung Thromboseneignung (103, 176).

Die Krankheitsbilder, bei denen die Gabe von Ig-Präparationen empfohlen wird, gehen oft direkt oder indirekt mit einem Mangel an AT III einher, wie z.B. jede Form der Verbrauchskoagulopathie und während der Sepsis (103), 147).

Die ist der Grund zur Annahme, daß der geringe Gehalt an Antithrombin III eher von therapeutischem Nutzen in Richtung Thrombosevermeidung ist, als Anlaß zu Zwischenfällen gibt. Der therapeutische Effekt wird aber aufgrund

der kleinen Toleranzbreite des Antithrombin III, im Körper sollte der AT III-Wert nicht unter 80 % sinken, äußerst gering sein.

6. Plasminogen

Die Plasminogenwerte liegen bei der Untersuchung mit chromogenen Substraten in der Größenordnung von 0,5 % der Norm, bei der immunologischen Untersuchung konnte kein Plasminogen nachgewiesen werden.

Bei diesen Ergebnissen, dem Verdünnungseffekt bei Infusion der Immunglobulinpräparationen und der Toleranzbreite des Plasminogens sind keine durch Plasminogen verursachten Zwischenfälle zu erwarten.

7. Präalbumin

Präalbumin läßt sich nur bei dem Produkt des Herstellers a in Höhe von 12,49 $\pm$ 0,19 mg/dl nachweisen. Alle übrigen Produkte sind frei von diesem Serumprotein. Die Höhe der Konzentration liegt im Normbereich.

Der Grund für den hohen Präalbumingehalt bei Produkt a ist höchstwahrscheinlich in der Stabilisierungsform der Infusionslösung zu suchen; sie ist albuminstabilisiert (35).

8. Albumin

Ähnlich dem Präalbumin, tritt Albumin nur bei Produkt a in der Konzentration von 5352,3 ± 49,1 mg/dl auf, die anderen Präparationen sind nahezu frei von Albumin.

Wie bereits erwähnt, erfolgt die Stabilisierung bei Präparation a durch Albumin. Dabei liegt Albumin in der gleichen Konzentration wie der Wirkstoff IgG vor, nämlich nach Herstellerangaben zu je 5000 mg/dl (35). Dieser Wert wird sogar um 3,5 % überschritten. Laut WHO-Vorschriften dürfen nur 5 % Spaltprodukte und Albumin in der Infusionslösung vorhanden sein (31, 155).

Wegen der Kleinheit der Moleküle ist Albumin für nahezu 80 % des kolloidosmotischen Drucks verantwortlich und hält somit das Blutvolumen konstant (91, 152). Bei therapeutischer Gabe von Albumin, sei es in Form von Albuminpräparaten oder albuminstabilisierten Immunglobulinpräparationen besteht bei extrem hoher Dosierung zumindest theoretisch die Möglichkeit einer Volumenüberlastung durch den onkotischen Druck des zugeführten Albumins (35).

Akute Infekte (Sepsis), Gewebsschädigungen wie Verbrennungen und operative Eingriffe und Tumorleiden verursachen eine akut entzündliche Dysproteinämie: eine verringerte Albuminkonzentration bei gleichzeitig erhöhtem Plasmaspiegel an Alphaglobulinen und Fibrinogen (2, 110, 137). Da zur Therapie dieser Erkrankungen die Gabe von Immunglobulinpräparationen in der Literatur empfohlen wird (22, 33, 41, 42, 43, 71, 150, 158, 173), kann durch den Albumingehalt bei Präparation a der verringerte Plasmaspiegel angehoben werden.

Albumin besitzt die Fähigkeit viele Stoffe reversibel binden zu können. Es kann deshalb die Transport- und Vehikelfunktion übernehmen. Neben körpereigenen Substanzen wie Hormonen können auch körperfremde Substanzen wie Medikamente und Vitamine gebunden werden (110, 152). Die Substanzen werden vor dem Angriff der im Blut befindlichen Enzyme geschützt (91). Andererseits kann dis zu einem Mangel der betreffenden Substanzen führen, da sie inaktiv sind, solange sie an Albumin gebunden sind (123). Diese mögliche Wechselwirkung ist bei der Gabe von Albumin zu berücksichtigen.

9. IgG

Die gemessenen Konzentrationen an IgG weichen bis zu 24 % von den Herstellerangaben ab. Die Unterschiede von Charge zu Charge liegen bei bis zu 34 %. In beiden Fällen zeigt Hersteller a die höchsten Abweichungen. Hersteller g hat mit Abweichungen im 1 % Bereich die geringsten Unterschiede zwischen Soll- und Istwert. Da die beiden Chargen von verschiedenen Personen untersucht wurden, kann dies einen Einfluß auf die Meßwerte ausüben. Ähnliche Abweichungen zwischen den angegebenen und den gemessenen Werten wurden auch von Fateh-Moghadam (50) festgestellt.

Eine Empfehlung für eine Standarddosierung kann nicht gegeben werden, weil die zu applizierende Menge von der Höhe des IgG-Serumspiegels, vom Alter und vom Abwehrvermögen des Patienten, sowie vom Infektionsrisiko abhängig ist. Außerdem muß die Art und der Schweregrad des Krankheitsbildes mit berücksichtigt werden (40, 175). Bei so vielen Faktoren, die für die Festlegung der Dosis zu beachten sind, dürfte der von der Norm abweichende Wirkstoffgehalt kaum klinisch relevant sein.

Zur Antikörpersubstitution bei primärem und sekundärem Antikörpermangelsyndrom werden 0,5 - 3 ml Immunglobulin pro kg Körpergewicht empfohlen (14, 35, 82). Auch bei Anwendung von 120 g innerhalb von zwei Wochen konnten manche Autoren keine unerwünschten Nebenwirkungen feststellen (50).

Zur Prophylaxe infektionsgefährdeter Personen liegt die Empfehlung bei 0,5 - 1 ml Immunglobulin pro kg Körpergewicht, zur Rötelnprophylaxe bei etwa 4 ml pro kg Körpergewicht (5, 140, 175).

Für die Behandlung viraler und bakterieller Infekte, die auch häufig nach operativen Eingriffen und Chemotherapien auftreten, wird die hochdosierte Anwendung empfohlen, also bis zu 6 ml Immunglobulin pro kg Körpergewicht, in besonders schwer zu beherrschenden Fällen noch mehr (16, 140, 175).

Bei intravenöser Applikation von 7S-Immunglobulinen können Unverträglichkeitsreaktionen wie Kopfschmerzen, flushartige Rötungen des Gesichts, Oppressionsgefühl auf der Brust, Angstgefühl, Dyspnoe, Fieber, Schüttelfrost, Übelkeit und Kreislaufkollaps mit Bewußtlosigkeit auftreten (50). Diese Nebenwirkungen werden in anaphylaktoide und phlogistische Reaktionsformen eingeteilt (63).

Um eine gute Verträglichkeit der Präparate bei intravenöser Anwendung zu erzielen, sind spezielle Aufbereitungsverfahren notwendig (166). Siehe dazu Tabelle 1. Gemeinsames Ziel aller Methoden ist die Produktion von aggregatarmen bzw. -freien Immunglobulinen, die nicht irreversibel geschädigt wurden und deshalb keine Fc-vermittelte Aktivität ohne Antigenkontakt hervorrufen können (166).

Durch das Fehlen eines geeigneten pharmakologischen Tiermodells ist man auf klinische Verträglichkeitsstudien und Langzeitbeobachtungen angewiesen. Angaben darüber sind in der zugänglichen Literatur äußerst selten zu finden (63).

VII. Zusammenfassung

Die intravenös applizierbaren Immunglobuline zeigen gegenüber denen zur intramuskulären Anwendung folgende Vorteile: schnellere Wirksamkeit, bessere Ausnutzung des applizierten Immunglobulins durch Umgehung lokaler Resorptionsverluste, exaktere Dosierungsmöglichkeit und Vermeidung von schmerzhaften lokalen Reizerscheinungen. Bei der intravenösen Anwendung können anaphylaktoide und phlogistische Nebenreaktionen auftreten.

Eine Empfehlung für eine Standarddosierung kann nicht gegeben werden, weil die zu applizierende Menge von der Höhe des IgG-Serumspiegels, vom Alter und Abwehrvermögen des Patienten, dem Infektionsrisiko, der Art und dem Schweregrad der Erkrankung abhängig ist. Die Dosierungsangaben schwanken zwischen 0,5 und 6 ml/kg Körpergewicht.

Eine klinische Anwendung der Immunglobulinpräparationen wird bei folgenden Krankheitsbildern empfohlen: bei primärem und sekundärem Antikörpermangelsyndrom, bei Autoimmunerkrankungen, bei chirurgischen Risikopatienten, bei chemotherapierten Patienten in der Myelosuppressionsphase, nach Plasmapherese und während bakterieller oder viraler Infektionen.

Untersucht wurden je 10 Immunglobulinpräparationen der gleichen Charge acht verschiedener Hersteller auf den Gehalt hämostasiologisch wirksamer Serumbestandteile mit Hilfe chromogener Substrate und der Laser-Nephelometrie.

Kallikrein wurde in z.T. erheblichen Konzentrationen nachgewiesen. Das albuminstabilisierte Produkt wies die höchsten Werte auf. Der hohe Kallikreingehalt könnte für einen Teil der nach Gammaglobulininfusion auftretenden

anaphylaktoiden Nebenwirkungen mitverantwortlich sein. Präkallikrein konnte ebenfalls in allen Produkten nachgewiesen werden.

Kallikrein-Inhibitor-Activity, C1-Inhibitor, Fibrinogen, Antithrombin III und Plasminogen konnte z.T. nicht, z.T. in geringsten Spuren nachgewiesen werden, sodaß sich keine klinische Relevanz daraus ableiten lassen dürfte.

Albumin und Präalbumin sind nur im albuminstabilisierten Produkt in hohen Mengen enthalten, Präalbumin findet sich in keinem, Albumin in geringen Konzentrationen bei vier der anderen Produkte. Bei Berücksichtigung der möglichen Komplikationen bei Albuminsubstitution, kann dieses Serumeiweiß therapeutisch genutzt werden.

Die IgG-Konzentration liegt je nach Hersteller zwischen 95 % und 124 % des angegebenen Sollwertes.

Der Vergleich zwei verschiedener Chargen, es wurden Meßwerte anderer Untersuchungen dazu herangezogen, ergab meist signifikante Unterschiede bei den Meßergebnissen.

VIII. Literaturverzeichnis

1) Abildgaard, U.: Purification of Two Progressive Antithrombins in Human Plasma. Scand. J Clin Lab Invest 19 (1967) 190 - 195

2) Alper, Ch.A.: Plasma protein measurements as a diagnostic aid. N Engl J Med 291 (1974) 287

3) Amzel, L.M.; Poljak, R.J.: Three-dimensional Structure of Immunoglobulins. Ann Rev Biochem 48 (1979) 961 - 997

4) Arlaud, G.J.; Reboul, A.; Sim, R.B.; Colomb, M.G.: Interaction of $C\bar{1}$-Inhibitor with the $C\bar{1}r$ and $C\bar{1}s$ Subcomponents in Human $C\bar{1}$. Biochim Biophys Acta 576 (1979) 151 - 162

5) Armour Pharma, Eschwege: Gebrauchsinformation: Immunglobulin 7S human i.v. (10.82)

6) Astrup, T.; Darling, S.: Antithrombin and heparin Acta Physiol Scand 5 (1943) 13

7) Barandun, S.; Morell, A.: Adverse Reactions to Immunoglobulin Preparations. In: Immunochemotherapie - A Guide to Immunoglobulin Prophylaxis and Therapie, hrsg. von A. Nydegger. Academic Press, London 1981

8) Barandun, S.; Skvaril, F.; Morell, A.: Prophylaxe und Therapie mit Gammaglobulin. Schweiz Med Wochenschr 106 (1976) 533 - 542

9) v. Behring, E.; Kitasato, S.: Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Tieren. Dtsch Med Wochenschr 49 (1890) 1113 - 1114

10) Behringwerke AG, Marburg: Bedienungsanleitung: Behring-Laser-Nephelometer

11) Behringwerke AG, Marburg: Behring Laser-Nephelometrie, Arbeitsvorschriften

12) Behringwerke AG, Marburg: Behring Laser-Nephelometrie, Grundlagen

13) Behringwerke AG, Marburg: Behring Laser-Nephelometrie, Schnellinformation

14) Behringwerke AG, Marburg: Gebrauchsinformation: Immunglobulin-Präparation 7S i.v. (4.83)

15) Bier, O.G.: Einleitung. In: Experimentelle und klinische Immunologie, 1. Aufl., hrsg. von O.G. Bier, D. Götze, J. Mota, W. Dias da Silva. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1979

16) Biotest Pharma, Dreieich: Gebrauchsinformation: Intraglobin F

17) Bleich, H.L.; Bora, E.S.: Actions and Interactions of Antithrombin and Heparin. N Engl J Med 292 (1975) 146 - 151

18) Bodey, G.P.; Nies, B.A.; Mohlberg, N.R.; Freireich, E.J.: Use of gammaglobulin in infection in acute-leukemia patients. J Am Med Ass 190 (1964) 1099 - 1102

19) Boehringer Mannheim GmbH: Fibrinogen-Reagenz, zur quantitativen Fibrinogenbestimmung

20) Boehringer Mannheim GmbH: Gerinnungs-Diagnostica: Antithrombin III

21) Boehringer Mannheim GmbH: Produktinformation: Antithrombin III Farbtest

22) Börner, U.; Hempelmann, G.: Beeinflussung des Immunsystems durch anästhesiologische und chirurgische Maßnahmen. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 34 - 40

23) Bruce, D.L.: Anesthesia, formed elements of the blood, and macrophages. Fed Proc 39 (1980) 1592 - 1594

24) Bruhn, H.D.: Plasma-Präkallikrein: Bestimmung mit Hilfe eines chromogenen Substrates. Internist 24 (1983) 220 - 225

25) Clauss, A.: Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. Acta haematol 17 (1957) 237 - 246

26) Cochrane, C.G.; Griffin, J.H.: Molecular assembly in the contact phase of the Hageman Factor system. Am J Med 67 (1979) 657 - 664

27) Cochrane, C.G.; Revak, S.D.; Wuepper, K.D.; Johnston, A.; Morrison, D.C.; Ulevitch, R.: Soluble Mediators of Injury of Microvasculature, Hageman Factor and Kinin Forming intrinsic Clotting and Fibrinolytic System. Microvasc Res 8 (1974) 112 - 121

28) Cohn, E.J.; Gurd, F.R.N.; Surgenov, D.M.; Byrnes, B.A.; Brown, R.K.; Derovaux, G.; Gillespie, J.M.; Kahnt, F.W.; Lever, W.F.; Lius, C.H.; Mittelman, D.; Mouton, R.F.; Schmidt, K.; Uvoma, E.: A system for the separation of the komponents of human blood: Quantitative procedures for the seperation of the protein komponents of human plasma. J Am Chem Soc 72 (1950) 465

29) Collen, D.: On the regulation and controll of fibrinolysis. Thromb Haemost 43 (1980) 77 - 89

30) Cunningham-Rundles, C.; Smithwick, E.M.; Siegal, F.P.: Treatment of primary Humoral Immunodefiency Disease with Intravenous (pH 4,0 treated) Gammaglobulin. In: Immunochemotherapy. A Guide to Immunoglobulin Prophylaxis and Therapy, hrsg. von U.E. Nydegger, Academic Press, London 1981

31) Cunningham-Rundles, C.; Hanson, L.A.; Hitzig, W.H.; Knapp, W.; Lambert, P.H.; Nydegger, U.E.; Prince, A.M.; Rosen, F.S.; Seligmann, M.; Soothill, J.F.; Thompson, R.A.; Torrigiani, G.; Wedgwood, R.J.: Appropriate uses of human immunoglobulin in clinical practice: Memorandum from an IUIS/WHO meeting. Bull WHO 60 (1982) 43 - 47

32) Damus, P.S.; Hieks, M.; Rosenberg, R.D.: Anticoagulant Action of Heparin. Nature 246 (1973) 355 - 357

33) Deicher, H.: Zur Funktion und Wirkung von Immunglobulinen: Anmerkungen. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 45 - 47

34) Denk, S.; Eisen, V.; Blümel, G.: Effect of Organic Kallikrein and Blood Coagulation, Complement and Esterolytic Activity of Plasmin. In: Kininogenases-Kallikrein III, hrsg. von G.L. Haberland, J.W. Rohen, G. Blümel, P. Huber, Schattauer, Stuttgart, New York 1975

35) Deutsche KabiVitrum GmbH, München: Gebrauchsinformation: Gammonativ

36) Dias da Silva, W.: Komplement. In: Experimentelle und klinische Immunologie, 1. Aufl., hrsg. von O.G. Bier, D. Götze, I. Mota, W. Dias da Silva. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1979

37) Dixon, F.J.; Jacot-Guillarmod, H.; McConahey, P.J.: The effect of passively administered antibody on antibody synthesis. J Exp Med 125 (1967) 1119

38) Donaldson, V.H.; Evans, R.R.: A Biochemical Abnormality in Hereditary Angioneurotic Edema. Absence of Serum Inhibitor of C'1-Esterase. Am J Med 35 (1963) 37 - 44

39) Douglas, G.N.: Complement System. Calbiochem-Behring Division of American Hoechst Corporation

40) DRK, Institut Hagen: Gebrauchsinformation: Immunglobulin (7S) human intravenös (7.82)

41) Duswald, K.H.: Immunglobulintherapie bei chirurgischen Patienten. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 11 (1983) 39 - 51

42) Duswald, K.H.: Zur Pathobiochemie der Leukozyten-Elastase und ausgewählter Plasmaproteine bei Sepsis nach abdominalchirurgischen Eingriffen. G-I-T Darmstadt 1984

43) Eckert, P.: Immunglobuline bei Risikopatienten in der Chirurgie. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 11 (1983) 34 - 38

44) Eckert, P.; Barbey-Schneider, M.; Schneider, R.; Sauerwein, W.: Therapie mit Immunglobulinen bei Risikopatienten. Anaesthesist 31 (1982) 90 - 94

45) Edy, J.; Deloch, F.; Collen, D.: Inhibition of Plasmin by Normal and Antiplasmin-Depleted Human-Plasma. Thromb Res 8 (1976) 513 - 518

46) Erdös, E.G.: Angiotensin I Converting Enzyme. Circ Res 36 (1975) 247 - 255

47) Europäisches Arzneibuch, Bd. II. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart 1975

48) Europäisches Arzneibuch, Bd. I und II. Kommentar, hrsg. von H. Böhme u. K. Hartke, Govi, Frankfurt 1978

49) Fateh-Moghadam, A.; Besinger, U.; Geursen, R.G.: Ein klinisches Modell zur Regulation der humoralen Immunantwort. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 69 - 79

50) Fateh-Moghadam, A.; Wick, M.; Simon, H.: Vergleichende proteinanalytische Untersuchungen verschiedener i.v. anwendbarer 7S-Immunglobulinpräparate. Immun Infekt 12 (1984) 45 - 50

51) Fell, C.N.; Ivanovic, S.; Johnson, A.; Seegers, W.H.: Differentation of plasmin and antithrombin activities. Proc Soc Exp Biol Med 83 (1954) 837

52) Fink, E.; Geiger, R.; Witte, J.; Biedermann, S.; Seifert, J.; Fritz, H.: Biochemical, pharmacological and functional aspects of glandular Kallikreins. In: Enzymatic release of vasoactive peptides, hrsg. von F. Gross, H.G. Vogel, Raven Press, New York 1980

53) Forbes, C.; Pensky, J.; Ratnoff, O.: Inhibition of activated Hageman factor and activated plasma thromboplastin antecedent by purified serum $C\bar{1}$ inactivator. J Lab Clin Med 76 (1970) 809 - 815

54) Frey, E.K.; Kraut, H.: Ein neues Kreislaufhormon und seine Wirkung. Arch Exp Pathol Pharmacol 133 (1928) 1 - 56

55) Friberger, P.: Determination of prekallikrein in plasma by means of chromogenic tripeptide substrate for plasma kallikrein. In: Kinins II. Biochemistry, Pathophysiology and Clinical Aspects, hrsg. von S. Fujii, H. Moriya, T. Suzuki. Plenum Publishing Corp. 1979

56) Friberger, P.: Chromogenic Peptide Substrates. Scand J Clin Lab Invest 42 (1982) 9 - 88

57) Frick, P.: Blut. In: Klinische Pathophysiologie, hrsg. von W. Siegenthaler, 4. Aufl. Thieme, Stuttgart 1979

58) Furth, van, R.; Leijh, P.C.J.; Klein, F.: Correlation between Opsonic Activity for Various Microorganisms and Composition of Gammaglobulin Preparations to Intravenous Use. J Infect Dis 149 (1984) 511 - 517

59) Gallimore, M.J.: Serum Inhibitors of Fibrinolysis. Br J Haematol 31 (1975) 217 - 231

60) Gallimore, M.J.; Aasen, A.O.; Lyngaas, K.H.N.; Larsbraaten, M.; Smith-Erichsen, N.; Amundsen, E.: Studies on the coagulation and fibrinolytic systems in septicemia. Microvasc Res 18 (1979) 292

61) Gallimore, M.J.; Friberger, P.: Simple chromogenic peptide substrate assays for determining prekallikrein, kallikrein inhibition and kallikrein like activity in human plasma. Thromb Res 25 (1982) 293 - 298

62) Gans, H.; Tan, B.H.: Alpha$_1$-Antitrypsin, an Inhibitor for Thrombin and Plasmin. Clin Chim Acta 17 (1967) 111 - 117

63) Geursen, R.G.; Kroh, U.; Krump, W.; Scharte, B.: Ursachen von Nebenwirkungen bei der Anwendung von intravenös applizierbaren Immunglobulinen. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 95 - 115

64) Gierhake, F.W.: Immunglobuline in der operativen Medizin. Immun Infekt 9 (1981) 162 - 169

65) Gigli, I.; Mason, J.W.; Colman, R.W.; Austen, K.F.: Interaction of Plasma Kallikrein with the $C\bar{1}$ Inhibitor. J Immunol 104 (1970) 574 - 581

66) Godal, H.C.; Rygh, M.; Laake, K.: Progressive Inactivation of Purified Factor VII by Heparin and Antithrombin III. Thromb Res 5 (1974) 773 - 775

67) Haberland, G.L.: The Role of Kininogenase, Kinin Formation and Kininogenase Inhibition in Post Traumatic Shock and Related Conditions. Klin Wochenschr 56 (1978) 325 - 331

68) Hansi, W.; Kratzsch, G.; Heimpel, H.: Klinische Erfahrungen mit einem intravenös applizierbaren Immunglobulinpräparat. Dtsch Med Wochenschr 105 (1980) 1675 - 1680

69) Harpel, P.C.: Alpha$_2$-Plasmin Inhibitor and Alpha$_2$-Macroglobulin-Plasmin Complexes in Plasma. J Clin Invest 68 (1981) 46 - 55

70) Harpel, P.C.; Cooper, N.R.: Studies on Human Plasma $C\bar{1}$ Inactivator - Enzyme Interactions. I. Mechanisms of Interaction with $C\bar{1}s$, Plasmin and Trypsin. J Clin Invest 55 (1975) 593 - 604

71) Hartlapp, J.H.; Schmidt, R.E.; Illinger, H.J.: Verminderung der Infekthäufigkeit nach Polychemotherapie metastasierender Hodentumoren durch Immunglobuline. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 11 (1983) 69 - 72

72) Hartwig, G.: Gammaglobulin bei sekundärem Antikörpermangelsyndrom. Fortschr Med 39 (1979) 1764 - 1766

73) Heber, H.; Geiger, R.; Heimburger, N.: Human plasma kallikrein: Purifikation, enzyme characterization and quantitative determination in plasma. Hoppe Seylers Z Physiol Chem 359 (1978) 659 - 669

74) Heidelberger, M.; Kendall, F.E.: A Quantitative Theory of the Precipitin Reaction. J Exp Med 62 (1935) 697 - 823

75) Heimburger, N.: Factors in the homeostasis of the coagulation fibrinolysis system. 1st. International Symposium on Tissue, Florence Mai 1967

76) Heimburger, N.; Haupt, H.; Schwick, H.G.: Proteinase Inhibitors of Human Plasma. In: Proceedings of the Intern. Research Conference on Proteinase Inhibitors, Munich 1970

77) Heller, W.: persönliche Mitteilung

78) Highsmith, R.E.; Weirich, C.J.; Burnett, C.J.: Protease Inhibitors and Human Plasmin: Interaction in a whole Plasma System. Biochem Biophys Res Commun 79 (1978) 648 - 656

79) Highsmith, R.F.; Rosenberg, R.D.: The Inhibition of Human Plasmin by Human Antithrombin Heparin Cofaktor. J Biol Chem 249 (1974) 4335 - 4338

80) Hofstaetter, T.; Brammsen, H.; Gronski, P.; Sedlacek, H.H.; Seiler, F.R.: Activation of human neutrophils by immune complexes and IgG aggregates. Abstr 14. Intern Leukocyte Culture Conference, Heidelberg 1981

81) Hofstaetter, T.; Gronski, P.; Kanzy, E.-J.; Schorlemmer, H.-U.; Seiler, F.R.: Effektorfunktionen von Venimmun. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 126 - 140

82) Hormon-Chemie München GmbH: Gebrauchsinformation: Intravenöses Immunglobulin human (10.82)

83) Hunziker, Th.; Schwarzenbach, H.R.; Krebs, A.; Nydegger, U.E.; Camponovo, F.; Hess, M.: Plasmaaustausch bei Pemphigus vulgaris. Schweiz Med Wochenschr 111 (1981) 1637

84) Imbach, P.; Barandun, S.; d'Apuzzo, V.; Baumgartner, C.; Hirt, A.; Morell, A.; Rossi, E.; Schöni, M.; Vest, M.; Wagner, H.P.: High-dose intravenous gamma-globulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. Lancet (1981) 1228 - 1230

85) Johannsen, R.; Kanzy, E.-J.; Ackermann, O.; Barth, R.; Bengelsdorff, H.-J.; Hin, J.; Weinmann, E.; Gruschkau, H.; Seiler, F.R.: Schutzwirkung von unmodifizierten S-sulfonierten 7S-Antikörpern bei vier verschiedenen experimentellen Virusinfektionen. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 141 - 154

86) Joller, P.W.; Barandun, S.; Hitzig, W.: Neue Möglichkeiten der Immunglobulin-Ersatztherapie bei Antikörpermangelsyndrom. Schweiz Med Wochenschr 110 (1980) 1451 - 1453

87) Kabi Diagnostica, Stockholm: Determination of Kallikrein-Inhibitor-Activity in Plasma

88) Kabi Diagnostica, Stockholm: Determination of Kallikrein-Like-Activity in Plasma

89) Kabi Diagnostica, Stockholm: Determination of Plasminogen in Plasma

90) Kabi Diagnostica, Stockholm: Determination of Prekallikrein in Plasma

91) Kaboth, W.; Begemann, H.: Die Blutgerinnung. In: Physiologie des Menschen, Bd. 5, 2. Aufl. Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore 1977

92) Kagan, L.J.; Becker, E.L.: Inhibition of permeability globulins by C'1-esterase inhibitor. Fed Proc 20 (1963) 613

93) Kalden, J.R.; Schranz, W.; Losch, G.; Krapf, F.; Bartels, O.: Neue Indikationsgebiete zur hochdosierten Immunglobulintherapie: Therapeutischer Plasmaaustausch, Autoimmunopathien. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 48 - 59

94) Karaus, J.; Hofmann, K.: unveröffentlichte Daten

95) Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler, 11. Aufl., Thieme, Stuttgart (1980)

96) Kisiel, W.; Fujikawa, K.: Enzymological Aspects of Blood Coagulation. Behr W Mitt 73 (1983) 29 - 42

97) Klauser, R.J.; Blümel, G.: Zur Bestimmung der Kallikreinausscheidung im Urin. Med Wt 31 (1980) 521 - 522

98) Klingemann, H.G.; Egbring, R.; Havemann, K.: Verbrauchskoagulopathie: Pathogenese und Differentialtherapie. Therap Wo 31 (1981) 3396 - 3398

99) Kornhuber, B.: Einsatz von Immunglobulinen zur unterstützenden Behandlung bei zytostatischer Leukämietherapie. In: Immunglobulin-Therapie, hrsg. von H. Deucher, I. Stroehmann. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1980

100) Kurachi, K.; Schmer, G.; Hermondson, M.A.; Teller, D.C.; Davie, E.W.: Characterization of Human, Bovine and Horse Antithrombin III. Biochem 15 (1976) 368 - 373

101) Kyrle, P.; Niessner, H.; Lechner, K.; Mannhalter, C.: The first case of several prekallikrein deficiency in Austria. Blut 45 (1982) 186

102) Lachmann, P.J.: An Evolutionary View of the Complement System. Behr W Mitt 63 (1979) 25 - 37

103) Lechner, K.; Thaler, E.: Antithrombin III-Mangel: ein wichtiger Risikofaktor für venöse Thromboembolien. Dtsch Med Wochenschr 107 (1982) 145 - 147

104) Lechner, K.; Thaler, E.; Neissner, H.; Nowotny, C.; Partsch, H.: Antithrombin III-Mangel und Thromboseneigung. Wien Klinis Wochenschr 89 (1977) 215 - 222

105) Leonhardt, H.: Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen, 6. Aufl. Thieme, Stuttgart 1981

106) Levy, L.; Lepow, I.H.: Assay and properties of serum inhibitor of $C\bar{1}$-esterase. Proc Soc Exp Biol Med 101 (1959) 608 - 611

107) Li, E.H.H.; Fenton, J.W.; Feinmann, R.D.: The Role of Heparin in the Thrombin-Antithrombin III Reaction. Arch Biochem Biophys 175 (1976) 153 - 159

108) Lijnen, H.R.: Extrinsic Plasminogen Activator: A New Principle in Fibrinolysis. Behr W Mitt 73 (1983) 43 - 55

109) Loos, M.: The classical complement pathway: mechanism of activation of the first component by antigen-antibody complexes. Prog Allergy 30 (1982) 135 - 192

110) Märki, H.H.: Eiweißstoffwechsel. In: Klinische Pathophysiologie, 4. Aufl., hrsg. von W. Siegenthaler. Thieme, Stuttgart 1979

111) Marciniak, E.; Gockermann, J.P.: Heparin-Induced Decrease in Circulating Antithrombin III. Lancet (1977) 581 - 586

112) Marx, R.: Antithrombin III: Praktische Bedeutung und neues, therapeutisches Prinzip. Therap Wo 31 (1981) 4295 - 4307

113) McConn, R.; Haberland, G.L.; Fröhlich, J.C.: The kallikrein-kinin-system in circulatory and metabolic homeostasis. World J Surg 5 (1981) 639

114) Morawitz, P.: Die Chemie der Blutgerinnung. IV. Über gerinnungshemmende Körper. Erg Phys 4 (1905) 388 - 412

115) Morell, A.: Funktion von Antikörpern. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 11 (1983) 1 - 5

116) Morell, A.; Barandun, S.: Substitution mit Immunglobulinen bei primärem Antikörpermangelsyndrom. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 16 - 24

117) Mota, I.: Histologie und Histogenese des lymphatischen Gewebes. In: Experimentelle und klinische Immunologie, 1. Aufl., hrsg. von O.G. Bier, D. Götze, I. Mota, W. Dias da Silva. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1979

118) Müller-Berghaus, G.; Mahn, J.; Obst, R.; Maul, F.-D.: Die Bedeutung des löslichen Fibrins (löslicher Fibrinkomplexe) für die Verbrauchskoagulopathie. Med Wt 26 (1975) 2163 - 2166

119) Müller-Berghaus, G.; Roka, L.; Lasch, H.G.: Induction of Glomerular Microlot Formation by Fibrin Monomer Infusion. Thromb Diathes Haemorrh 29 (1973) 375 - 383

120) Nordenman, B.; Nyson, C.; Bjork, I.: The Size and Shape of Human and Bovine Antithrombin III. Eur J Biochem 78 (1977) 195 - 203

121) Odegard, O.R.; Teien, A.N.: Antithrombin III, Heparin Co-Factor and Antifactor X_3 in a Clinical Material. Thromb Res 8 (1976) 173 - 178

122) Oh-Ishi, S.; Webster, M.E.: Vascular Permeability Factors (PF/nat and PF/dil); their Relationship to Hageman Factor and Kallikrein-Kinin-System. Biochem Pharmacol 24 (1975) 591 - 598

123) Opferkuch, W.; Cullmann, W.: Komplementsystem. In: Immunologie, Grundlagen-Klinik-Praxis, 2. Aufl., hrsg. von K.-O. Vorlaender. Thieme, Stuttgart, New York 1983

124) Overlack, A.; Stumpe, K.O.; Zywzok, W.; Ressel, C.; Krück, F.: Defect in kallikrein-kinin-system in essential hypertension and reduction of blood pressure by orally given kallikrein. In: Kinin II. Advances in experimental medicine an biology, vol. 120B, hrsg. von S. Fuji, H. Moriya, T. Suzuki. Plenum Press, New York, London 1979

125) Paar, D.: Zuverlässigkeit von Fibrinogenbestimmungen. Blut 23 (1971) 1 - 6

126) Pensky, J.; Schwick, H.: Human Serum Inhibitor of $C\bar{1}$ Esterase: Identity with $Alpha_2$-Neuroaminoglycoprotein. Sci 163 (1969) 698 - 699

127) Porter, R.R.; Reid, K.B.M.: Activation of the complement system by antibody-antigen complexes: The classical pathway. Adv Protein Chem 33 (1979) 1 - 71

128) Putnam, F.W.: Thyroxine-binding Prealbumin. In: The Plasma Proteins. Structure, Function and Genetic Control, vol. 1, 2. Aufl., hrsg. von F.W. Putnam. Academic Press, New York, San Francisco, London 1975

129) Ratnoff, O.D.; Lepow, I.H.: Some properties of an esterase derived from preparations of the first component of complement. J Exp Med 106 (1957) 327 - 343

130) Ratnoff, O.D.; Pensky, J.; Ogston, D.; Naff, G.B.: The Inhibition of Plasmin, Plasma Kallikrein, Plasma Permeability Factor and the $C\bar{1}r$ Subcomponent of the first Component of Complement by Serum $C\bar{1}$ Esterase Inhibitor. J Exp Med 129 (1969) 315 - 331

131) Rem, J.; Brandt, M.R.; Kehlet, H.: Prevention of Postoperative Lymphopenia and Granulocytosis by Epidural Analgesia. Lancet (1980) 283 - 284

132) Resch, K.; Gemsa, D.: Immunsystem. In: Immunologie, Grundlagen-Klinik-Praxis, 2. Aufl., hrsg. von K.-O. Vorlaender. Thieme, Stuttgart, New York 1983

133) Rosenberg, R.D.: The Effect of Heparin on Factor XIa and Plasmin. Thromb Diathes Haemorrh 33 (1974) 51 - 62

134) Rosenberg, R.D.: Chemistry of the Hemostatic Mechanism and its Relationship to the Activation of Heparin. Fed Proc 36 (1977) 10 - 18

135) Rosenberg, R.D.; Damus, P.S.: The Purification and Mechanism of Activation of Human Antithrombin-Heparin Cofactor. J Biol Chem 248 (1973) 6490 - 6505

136) Rother, U.: Persönliche Mitteilung (1981). Zitiert nach R.G. Geursen, V. Kroh, W. Krump, B. Scharfe: Ursachen von Nebenwirkungen bei der Anwendung von intravenös applizierbaren Immunglobulinen. In: Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 95 - 114

137) Rothschild, M.A.; Oratz, M.; Schreiber, S.S.: Albumin Synthesis. N Engl J Med 286 (1972) 816 - 820

138) Sachs, L.: Angewandte Statistik, 5. Aufl., Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1978

139) Sale, S.R.; Greenberger, P.A.; Patterson, R.: Idiopathic Anaphylactoid Reactions. A Chlinical Summary. J Am Med Ass 246 (1981) 2336 - 2339

140) Sandoz AG, Nürnberg: Gebrauchsinformation: Sandoglobin (1.83)

141) Schapira, M.; Scott, C.F.; Colmann, R.W.: Protection of Human Plasma Kallikrein from Inactivation by $C\bar{1}$ Inhibitor and Other Protease Inhibitors. Biochem 20 (1981) 2738 - 2743

142) Schapira, M.; Scott, C.F.; James, A.; Silver, L.D.; Kueppers, F.; James, H.L.; Colman, R.W.: High Molecular Weight Kininogen or Its Light Chain Protects Human Plasma Kallikrein from Inactivation by Plasma Protease Inhibitors. Biochem 21 (1982) 567 - 572

143) Schedel, I.: Intravenöse Immunglobulinsubstitution bei Patienten mit multiplem Myelom, Morbus Waldenström und chronischer lymphatischer Leukämie mit sekundärem Antikörpermangelsyndrom. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 11 (1983) 52 - 58

144) Schedel, I.; Plaumann, G.; Bodenstein, H.; Anagnou, I.; Baruth, B.; Peest, D.; Deicher, H.; Geursen, R.G.: Hochdosierte Immunglobulintherapie der chronischen idiopathischen thrombocytopenischen Purpura bei Erwachsenen. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 60 - 68

145) Scheiermann, N.; Kuwert, E.K.: Untersuchung menschlicher Gammaglobulinpräparate. I. Mitteilung: Virales Antikörperprofil. Med Klin 74 (1979) 820 - 824

146) Scheiermann, N.; Kuwert, E.K.: Untersuchung menschlicher Gammaglobulinpräparate. II. Mitteilung: Reinheitsgrad und Zusammensetzung. Med Klin 74 (1979) 825 - 929

147) Schipper, H.G.; Roos, J.; v.d. Meulen, F.; ten Cate, J.W.: Antithrombin III deficiency in surgical intensive care patients. Thromb Res 21 (1981) 73

148) Schmidt, A.: Über den flüssigen Zustand des Blutes im Organismus. Zbl Physiol 4 (1890) 257

149) Schmidt, R.E.; Budde, U.: Erfolgreiche Behandlung von Immunthrombopenien mit hochdosierten intravenösen Immunglobulinen. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 11 (1983) 73 - 78

150) Schmidt, R.E.; Lüttkenhorst, M.; Hartlapp, J.H.; Illinger, J.H.; Stroehmann, I.: Prophylaktische Gabe von Immunglobulinen bei aggressiv chemotherapierten Patienten mit Bronchialkarzinomen. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 11 (1983) 59 - 68

151) Schmidt, R.E.; Stroehmann, I.; Hartlapp, J.H.; Illinger, J.H.: Wert der prophylaktischen Gabe von Immunglobulinen bei aggressiver Chemotherapie. In: Immunglobulintherapie, hrsg. von H. Deicher, I. Stroehmann. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1980

152) Schmidt, R.F.; Thews, G.: Physiologie des Menschen, 21. Aufl. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1983

153) Schmitz, N.; Gassmann, W.; Löffler, H.: Substitution mit Immunglobulinen bei Leukämien. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 25 - 33)

154) Schmolke, B.: Eiweißanalytische und immunologische Nachweisverfahren. In: Immunologie, Grundlagen-Klinik-Praxis, 2. Aufl., hrsg. von K.-O. Vorlaender. Thieme, Stuttgart, New York 1983

155) Schneider, W.; Kaiser, P.E.: Immunglobulin vom Menschen - Anforderungen an seine Unschädlichkeit und Wirksamkeit. Immun Infekt 9 (1981) 157 - 161

156) Schorlemmer, H.-U.: Das Komplementsystem. Die gelben Hefte XXII (1982) 49 - 59

157) Schreiber, G.; Urban, J.: The Synthesis and Secretion of Albumin. Rev Physiol Biochem Pharmacol 82 (1978) 27 - 95

158) Schulze, H.E.; Schwick, G.: Über neue Möglichkeiten intravenöser Gammaglobulin-Applikation. Dtsch Med Wochenschr 87 (1962) 1643 - 1650

159) Schwick, H.G.; Haupt, H.: Chemie und Funktion der Human-Plasmaproteine. Angew Chem Bln 92 (1980) 83 - 95

160) Sealey, J.E.; Atlas, S.A.; Laragh, J.H.: Linking the kallikrein and renin systems via activations of inactive renin. Am J Med 65 (1978) 994 - 1000

161) Sedlacek, H.H.: Pathophysiological aspects of immune complex diseases. I. Interaction with plasma enzyme systems, cell membranes and the immune response. Klin Wochenschr 58 (1980) 543 - 592

162) Sedlacek, H.H.: Pathophysiological aspects of immune complex diseases. II. Phagocytosis, exocytosis and pathogenic depositions. Klin Wochenschr 58 (1980) 593 - 619

163) Sedlacek, H.H.; Seiler, F.R.: Zur Frage der Pathogenität von Immunkomplexen und der intravenösen klinischen Anwendung von IgG und enzymatisch behandelten IgG-Präparationen. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 80 - 94

164) Sedlacek, H.H.; Seiler, F.R.: Prophylaxe und Therapie mit Immunglobulinen: Eine kritische Stellungnahme zur Frage der immunkomplex-bedingten Entzündungsreaktion. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 11 (1983) 6 - 19

165) Seiler, F.R.: Struktur und Wirkungsweise von Antikörpern. Sonderdruck aus "V. Interdisziplinäres Forum" der Bundesärztekammer 1981

166) Seiler, F.R.: Struktur und Funktion von Immunglobulinen. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 1 - 15

167) Shanberge, J.N.; Srindhar, C.N.: The interaction of protein-bound heparin and antithrombin III. Ann NY Acad Sci 370 (1981) 708

168) Siegenthaler, W.: Klinische Pathophysiologie, 5. Aufl. Thieme, Stuttgart 1982

169) Sim, R.B.; Arlaud, G.J.; Colomb, M.G.: Kinetics of Reaction of Human $C\bar{1}$-Inhibitor with the Human Complement System Proteases $C\bar{1}r$ and $C\bar{1}s$. Biochim Biophys Acta 612 (1980) 433 - 449

170) Teger-Nilsson, A.C.; Friberger, P.; Gyzander, E.: Determination of a New Rapid Plasmin Inhibitor in Human Blood by Means of Plasmin Specific Tripeptide Substrate. Scand J Clin Lab Invest 37 (1977) 403 - 409

171) Thaler, E.; Lechner, K.: Antithrombin III deficiency and thromboembolism. Clin Haematol 10 (1981) 369 - 390

172) Tilz, G.T.: Folgereaktion durch Immunkomplexe. In: Immunologie, Grundlagen-Klinik-Praxis, 2. Aufl., hrsg. von K.-O. Vorlaender. Thieme, Stuttgart, New York 1983

173) Trautmann, M.; Brückner, O.; Hofstaetter, T.; Seiler, F.R.; Hahn, H.: Schutzwirkung verschiedener Antikörperpräparationen bei einer experimentellen bakteriellen Sepsis. Beitr Infusionsther Klinis Ernähr 9 (1982) 155 - 165

174) Travis, J.; Salvesen, S.G.: Human Plasma Proteinase Inhibitors. Ann Rev Biochem 52 (1983) 655 - 709

175) Troponwerke, Köln: Gebrauchsinformation: Polyglobin (1.83)

176) Vogel, G.E.; Gain, T.: Behandlung mit Antithrombin III: Indikationen und erste Ergebnisse. Beitr Klin Diagn Intensivmed 8 (1982) 179 - 191

177) Vogt, W.: Aktivierung und biologische Wirkungen des Komplementsystems. Funkt Biol Med I 189 (1982) 189 - 198

178) Vorlaender, K.-O.: Plasmaproteine. In: Immunologie, Grundlagen-Klinik-Praxis, 2. Aufl., hrsg. von K.-O. Vorlaender. Thieme, Stuttgart, New York 1983

179) Vorlaender, K.-O.; Seiler, F.R.: Immunglobuline und Antikörper. In: Immunologie, Grundlagen-Klinik-Praxis, 2. Aufl., hrsg. von K.-O. Vorlaender. Thieme, Stuttgart, New York 1983

180) Walton, B.: Effects of anaesthesia and surgery on immune status. Br J Anaesth 51 (1979) 37 - 43

181) Warnatz, H.: Immunsystem. In: Klinische Pathophysiologie, 4. Aufl., hrsg. von W. Siegenthaler. Thieme, Stuttgart 1979

182) Weigand, K.: Die Regulation des Serumalbuminspiegels unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Klin Wochenschr 55 (1977) 295 - 305

183) Wicklmayr, M.; Dietze, G.: Effect of oral kallikrein and intrabrachial-arterial bradykinin on forarm metabolism in maturity onset diabetes. In: Kininogenases. Kallikrein 4, hrsg. von G.L. Haberland, J.W. Rohen, T. Suzuki. Schattauer, Stuttgart, New York 1977

184) Witt, I.; Halser, K.: Klinische Bedeutung von Gerinnungsanalysen mit chromogenen Peptidsubstraten. In: Prostaglandine und Plättchenfunktion, hrsg. von H.K. Breddin. Schattauer, Stuttgart, New York 1978

Kallikrein-Like-Activity (U/l)

Probe \ Firma	a	b	c	d	e	f	g	h
1	148,4	4,59	10,19	101,5	38,85	64,15	2,49	113,0
2	147,9	3,73	9,98	94,6	39,39	63,64	2,23	115,1
3	144,1	4,30	10,32	95,9	40,25	63,47	1,89	113,0
4	145,5	4,30	9,98	95,1	38,87	66,73	1,72	113,9
5	159,6	4,01	9,63	98,4	39,39	66,39	1,72	114,9
6	165,5	4,30	9,80	98,0	39,39	66,39	2,06	113,9
7	145,3	3,73	10,32	97,0	39,90	65,97	2,06	110,8
8	141,0	4,01	9,80	98,4	38,53	63,47	1,89	115,0
9	141,2	3,73	10,66	96,6	38,18	64,84	1,89	112,5
10	141,7	4,01	9,48	97,5	39,04	63,81	1,89	112,5

Präkallikrein (%)

Probe	Firma a	b	c	d	e	f	g	h
1	11,82	4,66	19,34	26,85	1,40	4,48	7,68	10,31
2	10,88	8,11	19,16	27,79	0,72	3,36	8,62	12,01
3	12,19	5,29	21,03	28,92	3,92	3,92	6,93	10,88
4	12,57	8,73	19,71	29,11	2,42	2,42	6,74	10,50
5	15,76	11,24	18,02	27,79	3,36	0	4,86	9,75
6	10,88	5,60	19,33	14,97	3,17	0	11,07	12,57
7	13,14	6,23	19,34	14,45	2,98	2,60	10,88	11,80
8	11,63	5,29	20,46	17,64	0,46	1,85	12,01	11,82
9	12,57	4,35	20,65	13,69	0,64	0	12,76	11,25
10	9,94	3,41	21,40	15,76	0,46	0	10,50	10,38

Kallikrein-Inhibitor-Activity (U/l)

Probe \ Firma	a	b	c	d	e	f	g	h
1	0	0	10,01	0,44	4,02	0	0	3,56
2	0	0	6,75	1,33	6,76	0	0	0,55
3	0	0	8,59	0,65	3,67	0	0	1,67
4	0	0	7,44	0	6,41	0	0	2,78
5	0	0	9,08	1,77	1,78	0	0	3,33
6	0	0	5,83	2,21	3,68	0	0	3,04
7	0	0	5,83	0	4,81	0	0	2,67
8	0	0	5,94	0,55	2,32	0	0	1,76
9	0	0	6,06	1,22	1,99	0	0	2,55
10	0	0	7,21	0,21	3,33	0	0	1,22

C1-Inhibitor (mg/dl) immunologische Bestimmung

Probe \ Firma	a	b	c	d	e	f	g	h
1	<0,22	0	< 0,22	0	< 0,22	0	<0,22	<0,22
5	<0,22	0	<0,22	0	<0,22	0	<0,22	<0,22

Fibrinogen (mg/dl)

Probe	Firma a	b	c	d	e	f	g	h
1	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0

Fibrinogen (mg/dl) immunologische Bestimmung

Probe	Firma a	b	c	d	e	f	g	h
1	0	< 0,88	0	0	0	0	0	1,67
2	-	-	-	-	-	-	-	1,72
3	-	-	-	-	-	-	-	1,71
4	-	-	-	-	-	-	-	1,71
5	0	< 0,88	0	0	0	0	0	1,72
6	-	-	-	-	-	-	-	1,69
7	-	-	-	-	-	-	-	1,70
8	-	-	-	-	-	-	-	1,71
9	-	-	-	-	-	-	-	1,72
10	-	-	-	-	-	-	-	1,75

Antithrombin III (U/ml)

Probe \ Firma	a	b	c	d	e	f	g	h
1	0	1,45	0	0,22	0,87	0,35	0	1,21
2	0,35	1,45	0	0	0,48	0,27	0,78	0,69
3	0,17	0,87	0	0	0	2,00	0	0,96
4	0,70	1,59	0	0,95	0	0,26	0,24	0,30
5	0	1,31	0	0,78	0,13	1,04	0,49	0,39
6	0	1,02	0,65	0	0,39	0,96	0,57	0
7	0,04	1,31	0,26	0,04	0,13	1,04	0,49	0,26
8	0,13	1,02	0,61	0,30	0,48	1,04	0,24	0,04
9	0,57	1,74	0,87	0	0,57	0,70	0,16	0,17
10	0,18	1,88	0	0	0,04	0,78	0	0,52

Antithrombin III (mg/dl) immunologische Bestimmung

Probe \ Firma	a	b	c	d	e	f	g	h
1	1,03	2,79	0	0,67	0	0	0	0
2	1,03	2,80	-	0,66	-	-	-	-
3	1,04	2,79	-	0,64	-	-	-	-
4	1,03	2,80	-	0,65	-	-	-	-
5	1,04	2,85	0	0,65	0	0	0	0
6	1,04	2,85	-	0,65	-	-	-	-
7	1,05	2,82	-	0,64	-	-	-	-
8	1,05	2,86	-	0,66	-	-	-	-
9	1,05	2,85	-	0,67	-	-	-	-
10	1,05	2,83	-	0,67	-	-	-	-

Plasminogen (%)

Probe	Firma a	b	c	d	e	f	g	h
1	0,62	0,43	0,39	0,51	-	0,48	0,27	0,30
2	0,59	0,47	0,38	0,52	-	0,48	0,38	0,30
3	0,50	0,46	0,39	0,50	-	0,50	0,37	0,30
4	0,47	0,46	0,38	0,51	-	0,45	0,38	0,30
5	0,43	0,48	0,38	0,51	-	0,51	0,37	0,32
6	0,42	0,48	0,39	0,55	-	0,49	0,38	0,31
7	0,36	0,51	0,39	0,54	-	0,55	0,38	0,27
8	0,37	0,49	0,39	0,56	-	0,54	0,41	0,25
9	0,38	0,50	0,40	0,55	-	0,56	0,41	0,27
10	0,40	0,52	0,39	0,54	-	0,55	0,40	0,25

Plasminogen (mg/dl) immunologische Bestimmung

Probe	Firma a	b	c	d	e	f	g	h
1	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0

Präalbumin (mg/dl) immunologische Bestimmung

Probe	Firma a	b	c	d	e	f	g	h
1	12,46	0	0	0	0	0	0	0
2	12,48	-	-	-	-	-	-	-
3	12,75	-	-	-	-	-	-	-
4	12,50	-	-	-	-	-	-	-
5	12,12	0	0	0	0	0	0	0
6	12,46	-	-	-	-	-	-	-
7	12,56	-	-	-	-	-	-	-
8	12,74	-	-	-	-	-	-	-
9	12,27	-	-	-	-	-	-	-
10	12,60	-	-	-	-	-	-	-

Albumin (mg/dl) immunologische Bestimmung

Probe \ Firma	a	b	c	d	e	f	g	h
1	5284	0	0,69	0	1,52	3,05	1,48	0
2	5395	-	0,68	-	1,53	3,03	1,49	-
3	5324	-	0,68	-	1,53	3,02	1,48	-
4	5405	-	0,68	-	1,53	3,05	1,49	-
5	5384	0	0,69	0	1,53	3,03	1,48	0
6	5334	-	0,69	-	1,52	3,04	1,50	-
7	5314	-	0,70	-	1,54	3,07	1,50	-
8	5425	-	0,69	-	1,54	3,04	1,51	-
9	5364	-	0,69	-	1,53	3,06	1,49	-
10	5294	-	0,69	-	1,54	3,06	1,50	-

IgG (mg/dl) immunologische Bestimmung

Probe \ Firma	a	b	c	d	e	f	g	h
1	6365	4673	5665	5523	5423	6164	4966	5560
2	6248	4765	5712	5441	5422	6185	5065	5487
3	6248	4706	5732	5732	5405	6122	4958	5533
4	6216	4731	5654	5598	5315	6164	5015	5404
5	6248	4756	5551	5551	5422	6091	5023	5459
6	6227	4825	5618	5505	5369	6101	5082	5396
7	6143	4690	5656	5459	5495	6154	5082	5579
8	6227	4806	5598	5588	5387	6060	5048	5486
9	6164	4816	5579	5570	5387	6091	5065	5523
10	6133	4706	5674	5533	5378	6091	5073	5395

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Armin Frank Bühler
Geburtsdatum:	19. 3. 1958
Geburtsort:	Geislingen/Steige
Familienstand:	ledig

Bildungsgang

4/1965 - 7/1969	Lindenschule in Geislingen/Steige
9/1969 - 7/1976	Helfensteingymnasium in Geislingen/Steige
9/1976 - 6/1979	Wirtschaftsgymnasium in Geislingen/Steige
7/1979 - 9/1979	Grundwehrdienst
10/1979 - 3/1980	Studium der Fachrichtung Medizin an der Universität des Saarlandes in Homburg
4/1980 - 12/1985	Studium der Fachrichtung Zahnmedizin an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen
11. 12. 1985	Zahnärztliches Staatsexamen
seit 7/1983	Dissertation "Die Bedeutung von hämostasiologisch wirksamen Anteilen in Immunglobulinpräparationen"
seit 1/1986	Grundwehrdienst